

VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ –
TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA

Hornicko-geologická fakulta

Institut environmentálního inženýrství

**Vliv těžkých kovů ve srážkách na morfologii společenstev
mechorostů**

Diplomová práce

Autor:

Bc. Kateřina Lichtenbergová

Vedoucí:

Ing. Tomáš Bouchal, Ph.D.

Ostrava 2012

VŠB – TECHNICAL UNIVERSITY
OF OSTRAVA

Faculty of Mining and Geology

Institute of Environmental Engineering

**Effects of heavy metals in precipitation on bryophyte
communities morphology**

Thesis

Author:

Bc. Kateřina Lichtenbergová

Supervisor:

Ing. Tomáš Bouchal, Ph.D.

Ostrava 2012

VŠB - Technická univerzita Ostrava
Hornicko-geologická fakulta
Institut environmentálního inženýrství

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Kateřina Lichtenbergová**
Studijní program: N2102 Nerostné suroviny
Studijní obor: 3904T005 Environmentální inženýrství
Téma: **Vliv těžkých kovů ve srážkách na morfologii společenstev mechorostů**
Effects of heavy metals in precipitation on bryophyte communities
morphology

Zásady pro vypracování:

1. Rešerše odborných textů se zaměřením na problematiku povrchové morfologie společenstev/populací mechorostů a jejího možného vztahu ke znečištění těžkými kovy.
2. Experimentální část
 - 2.1. Aplikace simulovaných znečištěných srážek na kultury mechorostů a hodnocení možné indukované změny jejich povrchové struktury (surface roughness index) pomocí 3D fotogrammetrického skeneru
 - 2.2. Experimentální zhodnocení možnosti pěstování klonální kultury *Leucobryum glaucum*.
3. Grafické a statistické zhodnocení výsledků
4. Zhodnocení možností využití výsledku v biomonitoringu atmosférických těžkých kovů.

Seznam doporučené odborné literatury:

Bates, J.W., 1998: Is „life form“ a useful concept in bryophyte ecology? *Oikos*, 82: 223-237.

Glime, J. M.: Bryophytes ecology textbook. Volume 1. Physiological ecology. – Michigan technological university. 2007, online.

Krumnikl, M., Sojka, E., Gaura, J., Motyka, O., 2010: Three-dimensional Reconstruction of macroscopic features in biological materials. In: Fred, A., Filipe, J., Gamboa, H. (Eds): *BIOSTEC 2009*, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, p. 225-234

Markert, B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G. (eds.): Trace metals and other contaminants in the environment, Vol. 6: Bioindicators & Biomonitoring, Principles, concepts and applications. Oxford: Elsevier, 2003, 997 p.

Sarkar, B.: Heavy metals in the environment. New York: Marcel Dekker, 2002, 725 p.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

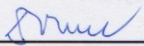
Vedoucí diplomové práce: **Ing. Tomáš Bouchal, Ph.D.**

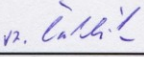
Konzultant diplomové práce: Mgr. Oldřich Motyka

Datum zadání: 31.10.2011

Datum odevzdání: 30.04.2012




prof. Ing. Vojtech Dirner, CSc.
vedoucí institutu


prof. Ing. Vladimír Slivka, CSc., dr.h.c.
děkan fakulty

Autorské prohlášení

Celou diplomovou práci včetně příloh, jsem vypracovala samostatně a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.

Byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména § 35 – využití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a využití díla školní a § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB-TUO) má právo nevýdělečně, ke své vnitřní potřebě, diplomovou práci užít (§ 35 odst. 3).

Souhlasím s tím, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB-TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci, obsažené v Záznamu o závěrečné práci, umístěném v příloze mé diplomové práce, budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO.

Bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.

Bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

V Ostravě dne 30.4.2012

Bc. Kateřina Lichtenbergová

Pod Zahradami 1297

Kopřivnice

742 21

Anotace

Práce se zabývá možností potencionálního využití stereofotogrammetrie pomocí 3D skeneru, metodou pasivního sběru dat povrchových struktur mechového zápoje, jako velice důležitého biomonitoru stavu mechového patra. Touto metodou se získává trojrozměrný model mechového porostu a tím i jeho index drsnosti, který má silnou korelační funkci s ekofyziologickými vlastnostmi mechového zápoje i jeho místem výskytu. Vzorky byly vyhodnoceny na CNT VŠB-TU metodou ICP-AES a laboratorním snímáním 3D stereofotogrammetrickým skenerem v laboratorních podmínkách. Výsledky jsou vyhodnoceny ve formě grafů.

Klíčová slova

Mechorosty, stereofotogrammetrie, ICP-AES, biomonitoring, index drsnosti povrchu, mechový zápoj.

Summary

The thesis deals with the potential utilization of photogrammetric 3D scanner, a way of passive surface structures data collection, on the moss canopy, as an important indicator of the state of the moss layer. This method is hereby used to obtain three dimensional models of moss canopy and thus the surface roughness index, which has been correlated with eco-physiological properties of moss canopy and its habitat. All samples were analyzed at the Nanotechnology centre (VSB-TU) by the means of ICP-AES and by 3D photogrammetric scanner under laboratory conditions. Results are presented in the form of graphs.

Key words

Bryophytes, photogrammetry, ICP-AES, biomonitoring, surface roughness index, canopy structure

Mé poděkování patří v první řadě mému vedoucímu diplomové práce Ing. Tomáši Bouchalovi Ph.D. a mému konzultantovi Mgr. Oldřichu Motykovi, za podporu a trpělivost, bez kterých by tato práce nemohla vzniknout.

Dále děkuji své rodině, především matce a sestře, za jejich pevnou trpělivost v době, kdy tato práce vznikala. Za pevnou a neustávající podporu, trpělivost a sílu, kterou mi dodávaly během doby vzniku práce. Poděkování patří i mým přátelům, kteří nepřestali věřit v můj úspěch.

Nelze opomenout instituce, bez kterých by se tato práce nestala plnohodnotnou. Jmenovitě doc. Ing. Jany Seidlerové, CSc. za dohled nad analytickými měřeními v Centru nanotechnologií VŠB-TU Ostrava.

Obsah

1 Úvod	1
1.1 Biomonitoring	3
1.1.1 Výběrová kritéria pro biomonitoring	5
1.2 Mechy jako biomonitoring	6
1.2.1 Strukturální adaptace mechorostů	7
1.3 Chování biomonitorů	8
1.4 Morfologie populace jako bioindikátor	9
2 Úvod do problematiky	11
2.1 Efekt těžkých kovů na zdraví a ekosystém	11
2.2 Vybrané druhy kovů	11
2.3 Nikl	13
2.3.1 Zdroje emisí niklu	13
2.3.2 Dopady na životní prostředí	14
2.3.3 Nikl jako esenciální stopový prvek	14
2.3.4 Příznaky spojené s nedostatkem niklu	15
2.4 Hliník	15
2.4.1 Atmosférický hliník z lidské činnosti	15
2.4.2 Vliv hliníku na růst a metabolismus rostliny	15
2.4.3 Chemická povaha Al a výskyt v rostlinách	16

2.4.4	Příznaky působení toxicity hliníku na rostliny.....	16
2.4.5	Běžné reakce výhonků v interakci s hliníkem.....	16
2.4.6	Toxicita a tolerance k hliníku.....	17
2.4.8	Interakce hliníku s jinými ionty	17
2.5	Měď	18
2.5.1	Zdroje emisí	19
2.5.2	Dopady na životní prostředí	19
2.6	Chemická analýza.....	20
2.6.1	Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-AES	20
2.6.2	Princip metody	21
2.7	3D stereofotogrammetrie.....	22
3	Cíl práce	23
4	Materiál a metodika	24
4.1	Sběr vzorků	24
4.2	Příprava vzorků	25
4.3	Snímání	25
4.3.1	Kalibrace optického zařízení.....	26
4.3.2	3D rekonstrukce povrchu mechového zápoje	27
4.4	Analýza dat	28
4.4.1	Výpočet indexu drsnosti povrchu.....	28
5	Výsledky	29

5.1 Analýza výsledků ICP-AES	29
5.2 3D stereofotogrammetrie.....	31
5.3 3D stereofotogrammetrie model mechového zápoje.....	34
6 Diskuze	42
7 Závěr	45

Seznam použitých zkratek

Al	hliník
Cu	měď
CNT	centrum nanotechnologií
ČHMÚ	český hydrometeorologický ústav
ICP-AES	atomová emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu
Ni	nikl
PCB	polychlorované bifenyly
S _r	index drsnosti povrchu (surface roughness index)

1 Úvod

Kvalita ovzduší je jedním z nejvýznamnějších globálních problémů, proto je nutné ji soustavně a intenzivně sledovat, monitorovat a snažit se zlepšovat. I nepatrné změny ve složení ovzduší mohou vést k rozsáhlým změnám životních podmínek. Vzduch a vše, co obsahuje, se dostává až do nitra organismů a přímo tak působí na jejich stav. Proto je kvalitě ovzduší věnována velká pozornost, jak v národním a evropském, tak v mezinárodním měřítku.

Jako kvalitu ovzduší označujeme úroveň znečištění vnějšího ovzduší, která může svými účinky ovlivňovat lidské zdraví, vegetaci, celé ekosystémy i materiály. Tato úroveň znečištění vnějšího ovzduší je způsobena vypouštěním znečišťujících látek z různých zdrojů v důsledku lidské činnosti (např. doprava, spalování, průmyslová výroba a další). Znečišťující látky jsou po vypuštění ze zdroje přenášeny v atmosféře a mohou tak ovlivňovat kvalitu ovzduší, jak v nejbližším okolí samotného zdroje znečištění, tak ve vzdálenějších oblastech. (www.mzp.cz)

Základní právní normou v České republice upravující hodnocení a řízení kvality ovzduší je zákon č. 86/2002 Sb., o ochraně ovzduší, v platném znění. Podrobnosti pak dále specifikuje nařízení vlády č. 597/2006 Sb., o sledování a vyhodnocování kvality ovzduší (dále jen nařízení). Nařízení stanovuje přípustné úrovně znečištění ovzduší (imisní limity, cílové imisní limity a dlouhodobé imisní cíle) pro celkem třináct znečišťujících látek, které mají prokazatelně škodlivé účinky na lidské zdraví, ekosystémy a vegetaci. (www.mzp.cz)

Na území České republiky je monitoring znečištění ovzduší zajišťován Ministerstvem životního prostředí pověřen Českým hydrometeorologickým ústavem (dále jen ČHMÚ). Český hydrometeorologický ústav (ČHMÚ) vykonává funkci ústředního státního ústavu České republiky pro obory čistota ovzduší, hydrologie, jakost vody, klimatologie a meteorologie. Na základě pověření Ministerstva životního prostředí provozuje ČHMÚ Státní imisní síť na území ČR, Informační systém kvality ovzduší ČR, rutinně zpracovává naměřené imisní hodnoty ve formě tabelárních a grafických přehledů aktuálních, denních, měsíčních, čtvrtletních a ročních měření. Nedílnou součástí

je i zpracovávání posudků o znečištění ovzduší, rozptylových studií. ČHMÚ rovněž provozuje ústřední regulační řád pro vybrané zdroje znečišťování ovzduší. (www.old.chmi.cz)

Monitorování znečištění ovzduší je v současné době prováděno téměř výhradně standardními monitorovacími způsoby, mezi něž řadíme chemické a fyzikální metody, využívání fyzikálně-chemických vlastností samotné vzduchové hmoty nebo znečišťujících látek a analytické metody zjišťování přítomnosti polutantů.

V dnešní době se pro monitoring používá mnoho živých organismů, zvláště cévnatých rostlin. Mezi nimi jsou rostliny používány jako:

a) Pasivní bioindikátory: stromy, mechy jsou používány k determinaci distribuce a rovněž jako výsledek dlouhodobé kontaminace v rozlehlých oblastech a eventuálně, pro koncentraci polutantů, kterými jsou exponovány.

b) Aktivní bioindikátory: tabák a mechy zpřístupňují defektní oblast a umožňují determinaci toku depozice. Kromě toho by mohly techniky založené na identifikaci biomarkerů zvýšit hodnotu výsledků. Nicméně rostliny představují nevýhodu v jejich neschopnosti poskytnout odezvu za uplynulý čas při porovnání s kontinuálním analyzátelem. Nakonec by mohl rozvoj v používání živočišných buněk jako nástrojů v blízké budoucnosti, měřit celkovou zátěž znečištění za podmínek blízkých těmto rutinním technikám. (Suchara, 1998)

Nejpoužívanějšími organismy k biomonitoringu jsou rostliny a to z mnoha důvodů: široká geografická dostupnost, snadný sběr a zjištění dopadu polutantů. Nicméně rostliny jsou různě sensitivní a to nejen podle povahy polutantu, ale i podle toho, ve které růstové fázi se nacházejí. Po expozici se nejprve projeví fyziologická deteriorizace a poté morfologické změny, tím je někdy zapříčiněno vymizení nebo objevení některých z druhů. Tyto změny mohou být viditelné pouhým okem. Je důležité upozornit na informaci, že mezi vyššími rostlinami a mechorosty nejsou u funkce příjmu živin a vedení prvků žádné markantní rozdíly. (Goffinet, 2008)

Mechorosty – jsou nejvyužívanější k měření atmosférické depozice kovů. Existuje zde významný vztah mezi koncentracemi pozorovanými ve stélkách rostlin a obsahem koncentrace Cd, Cu, Fe, Pb, V a Zn v dešťové vodě. (Falla et al., 2001) Způsobilost použití mechů jako bioindikátorů primárně závisí na jejich schopnosti absorbovat a zadržovat metalické polutanty, stejně dobře jako jejich nezávislost vztahující se k podílu z půdních minerálů.

Ve svém článku se Falla et al. (2000) zmiňuje o studii, kde byly mechorosty rozloženy v nylonových vacích, tak aby nedošlo k jejich uhynutí a zavěšených několik metrů nad zemí. Je nezbytné standardizovat velikost a hustotu rozložení vaků, tak aby bylo možno postup opakovat a byly zajištěny porovnatelné výsledky. V této studii mechorosty fixují mokrou atmosférickou depozici těžkých kovů a PCB. Praktickou výhodou této metody je možnost umístění mechů na místa, kde se přirozeně nevyskytují, a ve stejném čase lze získat reálné kontrolní vzorky. (Falla, 2000)

Dohled nad kvalitou ovzduší za použití biologického materiálu se používá více než století. Původně byly tyto techniky zaměřeny na majoritní polutanty (SO_x a HF), v současné době se progresivně vyvíjejí a mohou být přizpůsobeny současným problematickým kontaminantům. V nynější době představuje jediný spolehlivý způsob schopný spojit atmosférický kvalitativní vývoj a koncept časové a prostorové variability za přijatelné náklady. Na rozdíl od elektronických nástrojů, mohou biologické elementy poukázat dopad polutantů na živé organismy od chvíle, kdy se integrují mezi všechny environmentální parametry, ne pouze na několik molekul, které jsou měřeny on-line. Navíc tato technika umožňuje oceňování kumulativního efektu nebo synergii polutantů. Použití bioindikátorů nabízí doplňkové informace k tradičním monitorovacím systémům. (Falla et al., 2000)

1.1 Biomonitoring

Biomonitoring je obecně definován jako použití biologických organismů k získání informací o určitých vlastnostech biosféry. Použitý organismus se nazývá bioindikátor. Existují značné rozdíly mezi pojmy bioindikátor a biologickým monitorováním. (Markert et al., 2003)

Z praktického hlediska se využívá biomonitoring pasivní a aktivní, podle jeho přístupu využívání. U aktivního biomonitoringu je organismus přenesen (transplantován) na místo určení podle potřeby výzkumu, oproti tomu pasivní biomonitoring sleduje reakci konkrétní látky v organismu na podmínky, či stres, a tam je daný druh přenesen (transplantován). Vzorky se transplantují zejména z důvodu nevýskytu druhu na potřebné lokalitě, zejména kvůli znečištění. Také je možnost výskytu mechorostu na dané lokalitě, ale kvůli možné kontaminaci nebo adaptaci na zdroje znečištění je k biomonitoringu znečišťujících látek na stanovišti nevyužitelný. (Fernández et al., 2001)

Termín bioindikátor se týká všech organismů, které poskytují informace o životním prostředí a o změnách kvality životního prostředí. Biomonitoring jsou organismy, které poskytují kvantitativní informace o kvalitě životního prostředí (Markert et al., 2003). Proto je důležitý správný výběr organismu. Pro biomonitoring je využíváno mnoho druhů organismů, jejich využitelnost se ovšem váže na určité lokality, environmentální faktory, pouze určité druhy a látky. Z posledních dob vycházejí studie o aktivním biomonitoringu těžkých kovů např. biomonitoring pomocí růží (Calzoni et al., 2007), tato studie je zcela inovační, doposud byl aktivní biomonitoring vyhodnocován bezcévnými druhy. Z cévnatých rostlin byla vyhodnocena jako nejvhodnějším druhem pampeliška (*Taraxacum officinale* Web. 1780). Vlastnosti průduchů a chemicko-anatomické vlastnosti listů cévnatých rostlin byly vyhodnoceny nejvhodnějšími pro biomonitoring emisní zátěže ve městech.

Nejnámější pro biomonitoring těžkých kovů jsou lišejníky. Lišejníky se používají ve všech bioakumulačních studiích ze všech organismů nejdelší dobu. Není neobvyklé použití lidských tkání, analyzovány bývají mrtvé tkáně i krev. (Scherer, 2005) K analýze expozice toxickými látkami (zejména těžkými kovy) se ke zjištění používají lidské nehty i vlasy. (Rodrigues et al., 2008) Např. analýzou těžkých kovů v moči se v České republice zabývaly Černá et al. (1997).

Od roku 1994 se v České republice využívá biomonitoring člověka v rámci Systému monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ČR ve vztahu k životnímu prostředí (Černá et al., 2007).

Pasivní metody biomonitoringu poskytují jednotnou míru expozice v průběhu období. Hlavní výhody metody jsou:

- > Žádné dlouhodobé užívání drahých zařízení pro odběr vzorku.
- > Použití vzorkovacího organismu k biologickému monitoringu je v podstatě nejjednodušší.
- > Koncentrace v monitorovacím organismu jsou vyšší než v celkovém systému, což zlepšuje přesnost měření.
- > Organismy odráží vnější podmínky za určité časové období. (Glime, 2007)

1.1.1 Výběrová kritéria pro biomonitoring:

- > Druhy k biomonitoringu určitého stopového prvku jsou vybrány podle specifčnosti.
- > Druh musí být v monitorované oblasti hojný.
- > Musí být k dispozici pro odběr vzorku ve všech ročních obdobích.
- > Monitorovaný organismus by měl být relativně tolerantní k znečišťujícím látkám. (Glime, 2007)

1.2 Mechy jako biomonitory

Ve srovnání s cévnatými rostlinami jsou mechorosty, navzdory jejich malé konstituci, vysoce úspěšnou skupinou (15 000-20 000 druhů na celém světě). (Bates, 1998) Jádrem tohoto úspěchu je schopnost obývat těžce propustné substráty (skály, kůry stromů, zmrzlé půdy), ty které nejsou obecně kolonizovány cévnatými druhy. Mechorosty jsou *poikilohydrické*, mají vysokou schopnost zachytit velké množství vody a poté ji pomalu uvolňovat-obsah vody neumí nijak aktivně regulovat. (Hosokawa et al. 1961) Neschopnost udržet vodu v buňkách a současně i schopnost vodu rychle přijmout, a tím opět nastartovat metabolismus, jim však umožňuje přežívat nepříznivé podmínky (nadměrné oslunění, dlouhá období sucha, mráz). Díky tomu můžeme mechorosty obecně považovat za tzv. pionýrské organismy, které jsou schopny osídlovat i substráty, které by byly pro jiné rostliny nepříznivé (Proctor, 2000). Jsou také schopny růst za velmi špatných podmínek, zvláště za velmi nízkého osvětlení např. pod cévnatými rostlinami (Glime et al., 2007).

Druhy mechorostů jsou dobře přizpůsobené extrémním podmínkám, zároveň mají tendenci se vyhýbat mezidruhovému konkurenci. Glime (2007), je tedy řadí mezi stresu odolné a ruderalní druhy. Pokud je společenstvo mechorostů na lokalitě stabilizováno, jsou již mechorosty odolné nepříznivým podmínkám, tedy i znečištění ovzduší.

Reakce mechorostů na znečištění ovzduší je možno využít v biomonitoringu. Na reakcích mechorostů jsou zřejmé fyziologické změny, např. zpomalení růstu (expozice těžkými kovy), zrychlení růstu což je typické pro znečištění dusíkem a fosforem. Viditelnou reakcí na znečištění může být i změna zbarvení způsobena degenerací fotosyntetických barviv. (Zechmeister et al., 2001)

Mechorosty jsou zřídka vázány na specifický povrch. Kde se mechorosty vyskytnou, většinou záleží na dvou faktorech: 1) voda musí být pro mechorosty dostatečně dostupná v jakékoliv formě 2) zda povrch splňuje veškeré chemické požadavky pro mechorosty, závislost na pH (Bates, 1998). Mechorosty ukládají vodu kapilárně v prostorech mezi zápojem. Jednotlivé výhonky vytvářejí turbulenci proudu vzduchu, čímž dochází k rychlejšímu vypařování.

Mechorosty jsou kryptogamní (rozmnožují se výtrusy), mimo jiné se jim daří ve vlhkém prostředí. Pohlavní rozmnožování u mechorostů dochází pomocí primitivního mechanismu s pomocí kapky vody, tzv. „rain-splash“. Atmosférická vlhkost a srážky jsou pro mechorosty velice důležitou vlastností prostředí, na které jsou závislé celoživotně, a proto jsou nejvhodnějšími kandidáty k monitorování ovzduší. Mají vysokou toleranci k vysychání, dlouhodobé období bez vody přežívají zpomalením až skoro zastavením metabolických funkcí. Proto jsou na lokalitě schopny zůstat po několik sezón a popřípadě akumulovat znečištění po delší časové období. (Bates, 1998)

Richardson (1981) dělí mechorosty do tří vodních strategií: *vodní*; *mezofytické* mechorosty (žijí nepřetržitě na vlhkých stanovištích); *poikilohydrické* mechorosty (organismus se vysuší v důsledku vysychání jeho lokalit a po rehydrataci se obnovuje jeho metabolická aktivita). Tato strategie je kolonizací suchozemského prostředí. V tomto prostředí mechy soutěží s vyššími rostlinami. Jak by se dalo očekávat, míra tolerance k vysychání je obecně největší u suchozemských mechorostů. (Proctor, 2002)

Zajímavostí je, že přibližně 400 druhů suchozemských rostlin bylo identifikováno jako hyperakumulátory těžkých kovů. (Baker et al., 2000).

1.2.1 Strukturální adaptace mechorostů

Stavební úpravy pro zadržování vody popsal ve své studii Sarafis (1971):

- > Na úrovni společenství – pospolitost.
- > Na úrovni rostlinné – velikost listu, výška rostliny.
- > Na úrovni orgánové – pohyby listů, sbalování.
- > Na úrovni molekulární – vosk na povrchu listů.

Ve většině případů se ke zjištění stopových prvků v atmosféře používají mechorosty ektohydričné. Mají mnoho vlastností, které se dají využít k monitoringu znečišťujících látek v atmosféře Sarafis (1971):

- > získávají živiny z mokré i suché depozice,
- > nemají skutečné kořeny, ale i přesto mohou přijímat prvky ze substrátu,
- > příjem z atmosféry je podporován jejich slabě vyvinutou kutikulou,
- > velký povrch ku hmotnostnímu poměru zvyšuje adsorpci.

Mezi další výhody patří:

- > pomalé tempo růstu, které jim umožňuje akumulovat znečišťující látku v delším časovém období,
- > minimální morfologické změny v průběhu životnosti mechu,
- > trvalost,
- > široká distribuce,
- > snadné odběry vzorků,
- > možnost stanovit koncentrace v ročním růstovém segmentu. (Sarafis, 1971)

1.3 Chování biomonitorů

Mechanismus zachycení vzduchových částic, těžkých kovů a znečišťujících látek v ovzduší se projevuje ve třech formách. Jako vodný roztok, v plynné formě nebo formou

ulpívajících částic na povrchu. K hromadění škodlivin v mechu dochází prostřednictvím řady různých mechanismů, které uvádí Rao (1979):

- > jako vrstva částic,
- > ulpívání na povrchu buněk,
- > začlenění do vnější stěny buněk pomocí procesu iontové výměny,
- > metabolický řízený přechod buněk.

Přichycené částice jsou ovlivněny jejich velikostí a strukturou povrchu mechu. Proces probíhá iontovou výměnou, což je rychlý fyziologický proces ovlivněný počtem a typem volných míst a typů volných kationtů, jejich reakcí na sušení, na stav růstu, teplotě, srážkách a pH. V procesu iontové výměny, se kationty a anionty připojují k funkční organické skupině v buněčné stěně především prostřednictvím chelace. (Rao, 1979)

1.4 Morfologie populace jako bioindikátor

Zvláštností u mechorostů je jejich vlastnost nakládání a hospodaření s vodou, která má za následek využití, skladování i vedení vody na vyšší úrovni (Sarafis, 1971). Současná potřeba vlhkosti i světla vede k trade-off.

Podobně jako cévnaté rostliny, patří i mechorosty mezi více či méně spolehlivé indikátory ekologických nároků stanoviště, na kterém se vyskytují. Každý druh vykazuje užší či širší rozpětí požadavků na světelné, teplotní, vodní, substrátové a jiné poměry stanoviště. Z hlediska světelných poměrů rozeznáváme v hrubém měřítku druhy otevřených stanovišť a druhy zastíněných stanovišť. Extrémy vodních poměrů indikují druhy xerofytní a hygropytní. Mechová flóra bazických a kyselých substrátů je odlišná, některé druhy jsou dokonce schopny indikovat specifické substráty, například ložiska kovů (Zn a Cu) nebo mylonity. (Váňa, 2006)

Mechorosty jsou schopny reagovat na stanovištní změny způsobené změnami klimatu. Například změny teploty toků a především kyselá dešť mají za následek úbytek některých druhů vodních mechorostů. Naopak zvýšení teploty vodních toků má za následek masové šíření druhů. (Váňa, 2006)

Možnostmi biondikačního využití mechorostů se v České republice zabýval zejména Plášek (2008). Ve své studii uvádí, že jsou mechorosty ve většině případů mnohem citlivější na změny v ekosystému než cévnaté rostliny. Výsledkem průběhu určité disturbance nebo procesu je kvantitativní změna v bryoflóře.

2 Úvod do problematiky

Kovy jsou prvky přítomné v chemických sloučeninách jako kladné ionty, nebo ve formě kationtů v roztoku. Kovy s hustotou přes 5 mg/dm³ jsou známy jako těžké kovy. (Glime, 2007)

2.1 Efekt těžkých kovů na zdraví a ekosystém

Těžké kovy jsou seskupeny v kategorii „toxické“ pro zdraví lidí a ekosystém. Jsou to látky, které mohou poškodit životní prostředí i při nízké koncentraci prostřednictvím jejich vlastní toxicity, mají tendenci hromadit se v potravním řetězci nebo se rozkládat při nízké koncentraci. (Schroeder, 2007)

Přirozená koncentrace kovů ve sladké vodě se mění v závislosti na koncentraci kovů v půdě a na základě geologické struktury, kyselosti vody, obsahu humusu a koncentraci částic.

Z hlediska působení na zdraví lidí a ekosystémů mohou být kovy rozděleny do dvou skupin: kovy s nežádoucím účinkem (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Ba a Ag) a kovy s negativním toxickým účinkem (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Sb a Se). Těžké kovy mají tendenci se hromadit v lidském těle a chronicky jej poškozovat. Příkladem je kadmium, které se hromadí v játrech a ledvinách. Např. měď na rozdíl od ostatních těžkých kovů není toxická pro člověka. Tato informace vyplývá z toho, že se přirozeně účastní biologických procesů, nachází se v proteinech a enzymech. Pro organismy, jako například rostliny, může mít toxické účinky. Měď inhibuje fotosyntézu v řasách a fixaci dusíku v modrozelených řasách. (Delhaize, 1993)

2.2 Vybrané druhy kovů

Kovy mohou být v různých chemických a fyzikálních formách. Tyto formy „druhy“ mohou být jednoduché organické sloučeniny, organické komplexy nebo koloidy. Dominantní forma je do značné formy určována chemickým složením vody, a to zejména jejím pH.

Celková koncentrace těžkých kovů je vyjádřena toxicitou. Nestabilní kovy, jsou součty volných kovových iontů a kovů, které lze snadno oddělit od komplexů nebo koloidů. Nestabilní forma těžkých kovů je nejtoxičtější. Hliník je například nejtoxičtější pro ryby Al(OH)^{2+} , a to při koncentraci větší než 30 mg/l. Tyto formy dominují při pH 5 až 6, zejména v oblastech, kde se vyskytuje kyselý déšť. (Schroeder, 2007)

Jedna z vlastností kovů vlevo v periodické tabulce (A kovů) jako je Li, Na, K, Mg, Ca atd. je společná, a to že 94-100% koncentrace je ve formě volných iontů ve sladké vodě. Ostatní kovy tvoří komplexy. Kovy typu Ag, Zn, Cd, Co a Ni, tvoří pouze 40-60% koncentrace volných iontů ve sladké vodě při pH 8. Podíl volných iontů u nestabilních kovů se výrazně liší při nižším pH. Záporná logaritmická aktivita vodíkových iontů (pH) může být měněna reakcí organismů prostřednictvím biochemické reakce, například aktivitou ve žlučovodech - žlučové kameny. (Schroeder, 2007)

Biologická dostupnost a toxicita mnoha kovů v životním prostředí jsou ovlivňovány stabilitou minerálů, pH podloží a oxidačně-redukčním potenciálem (Eh) (Purvis et. al., 1996). Ve studii Purvis a Halls (1996) je popisován vzrůst toxicity a rozpustnosti kovových částí v blízkosti průmyslových oblastí např. vysokých pecí. Četné studie prokazují, že déšť s kyselým pH (pod 3) je jedovatý pro fotobionty lišejníku. Snižuje aktivitu fotosyntézy a koncentraci pigmentů, která vede k plazmolýze a k smrti buněk. Zejména pokud je koncentrace síranů vysoká (Lechowicz, 1982). Toxický vliv mědi a niklu v blízkosti pecí na tavení rud, lze považovat za důsledek snížení počtu druhů lišejníku a mechorostů na znečištěných místech (Gorshov, 1993).

Výsledky této studie poukazují na působení těžkých kovů a kyselosti na ultrastrukturální změny u řasových a houbových buněk lišejníků a mechorostů. Jejich reakce se lišila v závislosti na znečišťující látce, koncentraci kovů a na klimatickém prostředí. Tyto ultrastrukturální změny byly popsány hlavně z průmyslového prostředí.

Fotobiont je popsán jako nejcitlivější komponent reagující na znečištění ultrastrukturálními změnami zejména pro prvky: nikl a měď v kombinaci s kyselým pH. Hlavní ultrastrukturální změny po vystavení kyselému dešti a expozici těžkými kovy byly lokalizovány v mitochondriích a chloroplastech, což vysvětluje ztrátu fotosyntetické

funkce, která byla mimochodem popsána i v jiných studiích, a také na změnu v respirační aktivitě u mitochondrií. (Roy-Arcand et al., 1989) Úzká vazba kyselého pH a mědi může zvýšit formování volných radikálů, a poté vedou intracelulární oxidační podmínky k peroxidaci lipidů u membránových buněk rostlin a následném poranění thylakoidů. Otoky cytoplazmatické organely, především mitochondrií, svědčí o počátečních fázích buněčné smrti způsobené toxickými podmínkami. V rostlinných buňkách bobtnání thylakoidů není zcela specifické, což bylo vyzorováno v různých stresových situacích, včetně kovové toxicity, kyselosti a diferenciace iontů (např. u železa a vápníku). (Hecht-Buchholz, 1983)

Tyto ultrastrukturální změny jsou reakcí na ztrátu selektivní propustnosti plazmatické membrány, které se mohou vyskytnout buď přímo, v důsledku poškození membrány, nebo sekundárně v důsledku vyčerpání buněčné energie (Schwartzman et al., 1993).

2.3 Nikl

Je prvek, který je relativně málo znám v porovnání s jinými prvky. Má důležitý význam v úloze metabolismu rostlin, vývoji a růstu. Lidé ho pro jeho vlastnosti využívají v zemědělství, například při aplikaci postřiků proti chorobám na cévnaté rostliny. (Tarhanen, 1998)

2.3.1 Zdroje emisí niklu

Přírodním zdrojem niklu v atmosféře jsou aerosoly z mořské hladiny, půdní prachy a sopečný popel. Nikl se také uvolňuje při lesních požárech. Část atmosférického niklu pochází z meteoritického prachu. Meteority obsahují 5 – 50% niklu. Antropogenním zdrojem je těžba a zpracování niklu a spalování fosilních paliv a odpadů. Nikl může vstupovat do vody přirozeně rozpouštěním minerálů dna nebo může být obsažen v dešťové vodě. Antropogenním zdrojem jsou především odpadní vody z povrchové úpravy kovů a dále odpadní vody z barevné metalurgie. Dalším zdrojem mohou být poniklované části zařízení přicházejících do styku s vodou. Zvýšení koncentrace niklu v půdě může být způsobeno aplikací čistírenských kalů. Významný podíl zaujímají spalovací procesy a rafinerie ropy a plynu. (Tarhanen, 1998)

Mezi nejvýznamnější antropogenní emise niklu patří:

- > spalování fosilních paliv a odpadů;
- > rafinerie ropy a plynu;
- > těžba a zpracování niklu;
- > aplikace čistírenských kalů do půdy.

2.3.2 Dopady na životní prostředí

Nikl přítomný v ovzduší se může atmosférickou depozicí dostávat do půdy nebo vody. Nikl se váže na částice obsahující železo a mangan, které se často vyskytují v půdě a sedimentech. V přírodní vodě při pH 5 – 9 je dominantní formou výskytu Ni^{2+} . V tomto rozmezí pH se může nikl sorbovat na oxidy železa a manganu nebo tvořit komplexní sloučeniny s anorganickými ligandy. Toxicita niklu pro některé vodní organismy je poměrně vysoká, proto je jeho přípustná koncentrace ve vodárenských tocích limitována přísněji než v pitné vodě. Rostliny přijímají nikl z půdy převážně kořeny, jsou schopné ho akumulovat. Snížením pH se zvyšuje mobilita niklu a tím i příjem rostlinami. (<http://www.irz.cz>)

2.3.3 Nikl jako esenciální stopový prvek

Fotoasimilace nekovů spotřebuje neúměrné množství celkové energie vynaložené vyššími rostlinami. Takže 30-35% rostlin zachytí sluneční energii ze slunečních paprsků, což vede k produkci jen 2,5-3,2% z celkové sušiny rostlin. Tady je zásadní role niklu v rostlině, jelikož jej následující enzymy (ureáza, metyl koenzym, acetyl koenzym syntéza, hydrogenáza) potřebují pro katalýzu. Také se odhaduje, že nikl na sebe navazuje až 500 dalších proteinů a peptidů. Při nedostatku niklu se narušuje metabolismus fotoasimilace uhlíku. Nikl má také význam při ochraně cévnatých rostlin, které bývají obklopeny potenciálními chorobami (např. houby, bakterie, viry, hád'átka, roztoči, hmyz, savci). (Cataldo et al, 1978)

2.3.4 Příznaky spojené s nedostatkem niklu

Cévnaté rostliny při nedostatku niklu mívají zaoblené okraje listů, zvlněné listy, popřípadě listy odumírající, listy s nekrotickou zónou, křehké dřevo, snižuje se růst a kvetení, zakrslé internodia (bonsai forma), slabý růst výhonků, neschopnost přežít ve vegetačním klidu, mimořádně ostré pupeny, ztráta apikální dominance. (Cataldo et al, 1978)

Nikl je podstatně méně toxický pro rostliny než mnoho jiných stopových prvků (Mo, Cu, Co, Cr). (Cataldo et al, 1978)

2.4 Hliník

2.4.1 Atmosférický hliník z lidské činnosti

Zdroj atmosférického Al převažuje z prachu půd, ale je vytvářen také antropogenní činností. Jemné částice jsou považovány za nejnebezpečnější z hlediska pro zdraví lidí, které pronikají hlouběji do lidského dýchacího ústrojí. Koncentrace hliníku v atmosféře se pohybuje v rozmezí od 90 do 1800 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Zdrojem hliníku v atmosféře je hlavně půdní prach, v průmyslových oblastech z kovovýroby, spalování paliv atd. může být zvýšená koncentrace patrnější. (Delhaize, 1993)

2.4.2 Vliv hliníku na růst a metabolismus rostliny

Toxicita hliníku je jedním z hlavních faktorů, které omezují růst a vývoj rostlin v mnoha kyselých půdách. Nicméně silná interakce Al (toxická forma Al^{3+}) s ligandy kyslíku vede k inhibici buněčného dělení a růstu buněk. Chemické vlastnosti půd, omezují růst kořenů v kyselých půdách (snižují produkci plodin), včetně Al, Mn a různých kationtů Ca, Mg, P, Mo, Si. (LeNoble et al., 1996)

Je všeobecně známo, že rostliny pěstované v kyselých půdách v důsledku rozpustnosti Al při nízkém pH mají sníženou kořenovou aktivitu a vykazují příznaky

nedostatku živin (nedostatek výnosu při produkci rostlin). U přirozených kyselých půd, které tvoří asi 40% světové orné půdy je toxicita hliníku hlavním zemědělským problémem, který je intenzivně studován. (LeNoble et al., 1996)

2.4.3 Chemická povaha Al a výskyt v rostlinách

Hliník je přítomen ve vodě, ovzduší, ale většina je začleněna v hlinito-křemičitanové složce minerálů v půdě. Jen velmi malé množství je skladováno na úrovni sub-molekulární, ve formě ovlivňující biologické systémy. Intenzivní proces rozpouštění hliníku je spojen se stupněm acidifikace půd, způsobený vyplavováním iontů (Na^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) a snižováním pH. Ionty hliníku se velmi pomalu přemísťují do horních částí rostlin (Ma et al., 1997a). Většina rostlin obsahuje více než 0,2 mg Al v 1g sušiny. Nicméně existují některé rostliny fungující jako akumulátory hliníku, které obsahují až 10x více, aniž by utrpěly újmu. Takovýmto typickým příkladem akumulátorů hliníku jsou čajovníky. Obsah hliníku v těchto částech této rostliny může obsahovat až 30 mg v 1 g sušiny, např. ve starých listech (Matsumoto et al., 1976)

2.4.4 Příznaky působení toxicity hliníku na rostliny

Negativním působením toxicity hliníku na rostliny je inhibice růstu kořene. Nejprve se příznaky dotýkají kořenů (u výhonků je pozorována toxicita Mn). Kořeny bývají obvykle pahýlovité a křehké, kořenové špičky a boční kořeny bývají silné a mohou hnědnout. Takovéto kořeny nejsou vhodné při čerpání živin a vody z půdy. (Mossor-Pietraszewska et al., 1997).

2.4.5 Běžné reakce výhonků v interakci s hliníkem

Buněčné a ultrastrukturální změny listů, zmenšení průduchu, snížená fotosyntetická aktivita vedoucí ke chloróze a odumření listů, celkový pokles počtu a velikosti listů, takto jsou popsány běžné reakce výhonků na působení hliníku na rostliny.

Fosforylace¹ proteinů hraje důležitou roli v regulaci různých biologických aktivit v rostlinách a poskytuje dráhu signálu, zprostředkovanou extracelulárními podněty do buněk. MAP kináza je jednou z cest pro přenos signálu jako pro světlo, teplota, sucho a hormonální zabezpečení. (LeNoble et al., 1996)

Ionty hliníku jsou rostlinou přijímány většinou přes kořenový systém a jen velmi malá část proniká přes listy. Většina autorů se shoduje v tom, že proces vychytávání obecně aktivních kovů vede specifický ion – nosič. Hlavním cílem negativního působení toxicity v buňce představuje plazmatická membrána. Primární účinky vystavení hliníku se mohou objevit za pár minut až několik málo hodin po expozici. Je velmi pravděpodobné, že tyto účinky jsou zprostředkovány podle schopnosti vázat se na karboxyl a fosfátové skupiny buněčné stěny a membrány (Gunsé et al., 1997), přestože se cesty toxicity symplastem a apoplastem intenzivně diskutují. Hlavní část absorbovaného hliníku je v apoplastu (30-90%) z celkového obsahu Al. Rengel et al. (1996) ve svých studiích popisují největší výskyt hliníku v buněčných stěnách.

2.4.6 Toxicita a tolerance k hliníku

Rostlinné druhy a genotypy se v toleranci k hliníku velmi liší, k prvkům obecně. Například rostliny tolerantní k hliníku, bývají více tolerantními k suchu a vyžadují nižší dávku vápna a minerálních hnojiv než méně tolerantní genotypy. (Delhaize, 1993)

2.4.7 Interakce hliníku s jinými ionty

Vzájemné interakce kovů jsou velmi důležité pro růst a vývoj rostlin a určují tak dostupnost kovových iontů v různých půdních podmínkách, jako je pH nebo redox potenciál. Toxicita hliníku je složitým fenoménem, projevující se například nedostatkem fosforu, vápníku, hořčíku nebo železa (Foy, 1968).

Ačkoliv byly prokázány genotoxické účinky hliníku, mechanismus toxicity hliníku není dobře znám. Ale je zřejmé, že chemické formy hliníku působí odlišně na biologické

¹ Fosforylace/defosforylace proteinů se často používá jako přepínač mezi aktivní a neaktivní (či jinak aktivní) formou proteinu.

funkce. Destruktivní vliv byl prokázán na různých úrovních organizace rostlin. Hliník vstupuje především do kořenového hrotu, zejména na distální části přechodové zóny, přesněji do symplastu. Nicméně vzniká otázka, do jaké míry se obecný mechanismus podílí na transdukci² a do jaké míry hliník narušuje metabolismus DNA. (Delhaize, 1993)

2.5 Měď

Měď je základní složkou enzymů, které katalyzují redoxní reakci v různých metabolických pochodech. Je nutná pro pochody ureázy, syntézy mnoha rostlin a hub, včetně mechorostů, kde enzym hraje důležitou roli při metabolismu dusíku. Stejně jako mnoho ostatních stopových prvků taky měď je ve větším množství toxická. Brzdí růst a fotosyntézu, zvyšuje propustnost plazmatické membrány, což způsobuje ztrátu iontů K^+ a snížení příjmu základních prvků (Gadd et al., 1993). Ultrastrukturální újmy vycházející z působení stresu mědi byly pozorovány u vyšších rostlin u chloroplastů mitochondrií. Kromě toho vystavení kovem může vyvolat puchýřky. V severním Finsku a SZ Ruska, byly nalezeny ionty prvků u epifytických mechorostů hutě Monchegorsk (Tarhanen et al., 1999), kde byly zvýšené koncentrace Cu, Ni a SO_x . Cílem této studie bylo posouzení vlivů kyselosti iontů Ni a Cu, samostatně či v kombinaci na ultrastruktury řas a houbových buněk a stanovení prahové koncentrace účinků znečišťujících látek. (Tarhanen, 1999)

Měď na rozdíl od ostatních těžkých kovů není toxická pro člověka. To je způsobeno tím, že se účastní v lidských fyziologických procesech, nachází se v proteinech a enzymech. Ovšem pro jednodušší organismy může mít/má toxické účinky. Měď inhibuje fotosyntézu v řasách a fixaci dusíku v modrozelených řasách. (Gadd et al., 1993)

Kationty kovů s komplexně vázanou vodou a rozpustné komplexy kovů jsou pro rostlinu v nejvíce dostupné formě. Zatímco redukované kovy v sedimentech jsou téměř kompletně nepoužitelné pro rostliny kvůli nízké rozpustnosti až nerozpustnosti většiny sulfidů kovů. Hladiny kovů ve většině makrofyt vykazují typický sezónní průběh s jarním maximem následujícího stálým poklesem v průběhu léta. Toto bývá přičítáno

² Transdukce - přenos genetického materiálu pomocí virových partikulí

k fyziologickým změnám určeným prostředím zahrnujících translokaci mezi nadzemními a podzemními částmi rostliny. Povlak obsahující železo na kořeni hraje důležitou roli ve využitelnosti a příjmu kovů z redukovaných sedimentů. Makrofyta jsou důležitá v cyklu sedimentárních stopových prvků, který začíná příjmem kořeny, pokračuje sekrecí do vody a absorpcí kovů detritem, který se může dostat do sedimentů. Pokusy s toxicitou prvků ukázaly, že stříbro, arsen, chrom, měď, rtuť a nikl jsou pro makrofyta asi 10x toxičtější než zinek a olovo. Měď je jeden z nejtoxičtějších z uvedených prvků a jeho účinek je viditelný v koncentracích 0,05-0,15 g/ml. Ve srovnání s fytoplanktonem, makrofyta jsou 10-100x méně citlivá k většině prvků (kromě mědi), ke které jsou citlivá stejně. (Gadd et al., 1993)

2.5.1 Zdroje emisí

Do ovzduší se měď uvolňuje při těžbě a zpracování měděných rud a při spalování fosilních paliv a odpadů. Atmosférickou depozicí se dostává ze vzduchu do ostatních složek životního prostředí. Antropogenním zdrojem mědi v povrchových vodách mohou být odpadní vody z povrchové úpravy kovů (galvanizovny, oplachové vody z moření mědi), dále se měď může dostat do vod aplikací některých algicidních preparátů, které se dávkuje proti nadměrnému rozvoji sinic a řas. Přírodním zdrojem mědi je zvětrávání, sopečné výbuchy, lesní požáry a rozklad biomasy. (www.irz.cz)

Mezi nejvýznamnější antropogenní zdroje patří:

- > těžba a zpracování měděných rud,
- > spalování fosilních paliv a odpadů,
- > odpadní vody z povrchové úpravy kovů,
- > aplikace algicidních preparátů.

2.5.2 Dopady na životní prostředí

Atmosférickou depozicí přechází měď ze vzduchu do vody a půdy. Měď je v půdách silně vázána na organické látky a jílové částice. Proto zůstává většina mědi v povrchových částech půdy a nedochází k transportu hlouběji. Rozpustnost mědi je limitována rozpustností hydroxidu měďnatého, společným srážením s méně rozpustnými

hydroxidy kovů a adsorpcí. V letních obdobích může u dna hlubších nádrží docházet ke vzniku sulfanu a ke srážení mědi ve formě sulfidu měďnatého. Měď je esenciálním prvkem pro živočichy a vyšší rostliny, ve větším množství jak už je uvedeno výše je však značně toxická pro vodní organismy. (www.irz.cz)

2.6 Chemická analýza

Odebrané vzorky mechorostů vystavených simulací kyselými roztoky těžkých kovů byly analyzovány detekcí následujících kovů (Al, Cu, Ni). Pro stanovení těžkých kovů byla použita metoda atomové emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP - AES) prováděna pod dohledem akreditovaných pracovníků CNT VŠB-TU Ostrava.

2.6.1 Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-AES

Indukčně vázané plazma (ICP) je využíváno v chemické prvkové analýze již téměř po čtyři desetiletí. Výboj ICP byl nejdříve použit jako budicí zdroj pro atomovou emisní spektrometrii (ICP-AES), označovanou také jako ICP-OES (optická emisní spektrometrie s ICP). Od počátku 80. let je využíván také jako zdroj iontů pro hmotnostní spektrometrii (ICP-MS). (Němcová et al., 2004)

Analytické vlastnosti ICP-AES výboje lze charakterizovat v několika bodech. Jsou to:

- > použitelnost pro více než 70 prvků;
- > rychlé simultánní stanovení
- > v principu vysoká selektivita;
- > vysoká citlivost;
- > nízké meze detekce, typicky 1-10 ng/ml;
- > široký lineární dynamický rozsah 5-7 řádů,
- > nízké nespektrální interference $\ll \pm 5 \%$ RSD;
- > možnost analýzy kapalných, plynných i pevných vzorků;
- > analýza mikrovzorků (ml/min) i běžných průtoků (1-2 ml/min);

- > přesnost od 0.2 % RSD a vysoká správnost;
- > vysoká kapacita měření (102-103 stanovení/h);
- > automatizovaný provoz.

V současné době představuje ICP-AES rutinní analytickou techniku, která nalezla uplatnění v laboratořích nejrozličnějších průmyslových odvětví při analýze surovin, kontrole jakosti produktů a hodnocení odpadů. ICP-AES je využívána např. v environmentálním a agrochemickém monitoringu, při kontrole kvality vod, půd, potravin a pod. (www.cheminfo.chemi.muni.cz)

2.6.2 Princip metody

Roztok analytického vzorku je zmlžen a vzniklá mlha je proudem argonu vedena do hořáku, ve kterém je za pomoci střídavého vysokofrekvenčního magnetického pole udržováno argonové plazma o teplotě 6 000 – 10 000 K. Za takových podmínek se rozpouštědlo okamžitě odpaří a zanikají chemické vazby v molekulách přítomných sloučenin. Energie v plazmatu je dostatečná k tomu, aby došlo k excitaci elektronů přítomných atomů do vyšších energetických hladin. Protože excitovaný stav atomu je nestabilní, vrací se vybuzené elektrony zpět na své původní energetické hladiny a přitom emitují světlo o přesně definované vlnové délce, určené energetickým rozdílem obou hladin. (Němcová et al., 2004)

Emitované světlo je poté vedeno na velmi výkonný monochromátor, který rozdělí zachycené světelné záření podle jeho vlnových délek a fotony tohoto rozděleného světla dopadají na citlivý detektor, který převede intenzitu dopadajícího záření na elektrický signál. Intenzita signálu odpovídajícího charakteristické vlnové délce světla vznikajícího přechodem energetických stavů analyzovaného prvku pak odpovídá množství prvku, přítomného v analyzovaném roztoku. (Němcová et al., 2004)

Analytická měření proběhla pod záštitou Centra nanotechnologií VŠB – TU Ostrava, je zaintegrovaná v diplomové práci jako Příloha I Protokol o provedení zkoušek.

2.7 3D stereofotogrammetrie

Tato pasivní bezkontaktní metoda získává informace z různých vzdáleností od povrchu. Jako snímací zařízení jsou zde používány dvě snímací přenosné kamery současně snímající stejný obraz (pod jiným úhlem). Tento princip se podobá lidskému zraku. Rekonstrukce 3D modelu se přepočítává z původních souřadnic XY (dvojměrný prostor) na získaných snímcích na souřadnice XYZ (trojměrný prostor). Na zobrazovací plochu obou z kamer se promítá obraz, který se liší souřadnicemi získaných obrazů. Jestliže můžeme pracovat s informací jako: přesné parametry nastavení pozic kamer, snímacího zařízení a souřadnic XY snímacího bodu na obou snímaných snímcích, tak jsme schopni za užití triangulace získat souřadnici Z – informaci o hloubce povrchu v daném bodě. (Sojka et al., 2000)

Pro rekonstrukci povrchu je nutná přesná identifikace odpovídajících bodů na obou snímcích z kamer. Identifikace může být prověřena manuálně pouhým zaznamenáním souřadnic v každém ze snímků nebo automaticky. Automaticky identifikaci zajišťují algoritmy – stereomatching algoritmy. (Sojka et al., 2000)

Stereomatching spočívá v nalezení specifického zobrazení pomocí bodů, nalézajících se na obou snímcích stejného obrazu. Korespondují si pouze dva body ze dvou odpovídajících snímků, ty pak popisují jedinečný bod trojměrného prostoru. Výsledkem nalezení korespondence je tzv. mapa disparity, kde pro každý bod v jednom snímku obsahuje mapa disparity rozdíl souřadnic X tohoto bodu a korespondujícího snímku v bodě druhém. (Sojka et al., 2000)

V předcházejících výzkumech (Krumnikl et al., 2008) byly k rekonstrukci mechového zápoje a k získání mapy disparity použity a testovány jiné stereomatchingové algoritmy, při kterém se nejlépe uplatnil algoritmus navržený Ogalem a Aloimonosem (2005). Z důvodu vysoké nepravidelnosti ve struktuře povrchu mechového zápoje nebyla tedy výsledná rekonstrukce signifikantní.

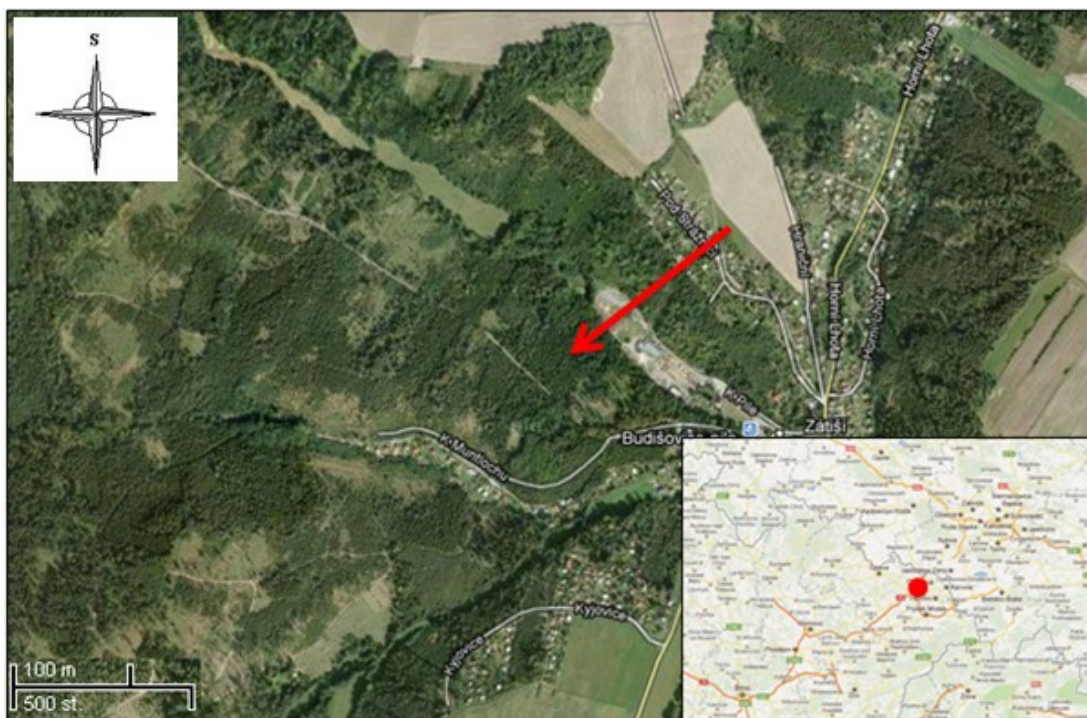
3 Cíl práce

Cílem této práce je zhodnocení povrchu mechového zápoje 3D stereofotogrammetrií v laboratorních podmínkách jako vhodnosti použití mechorostů k bioindikaci. Současně je jedním z hlavních cílů ověření možnosti použití živého organismu (mechorostu) k biomonitoringu a evaluaci znečištění atmosféry těžkými kovy ve srážkách pomocí fyziologické změny na společenstvu mechorostů.

4 Materiál a metodika

4.1 Sběr vzorků

Měření probíhalo v laboratorních podmínkách. Pro sběr vzorků byla vybrána obec Zátíší. Obec patří do mikroregionu Ostravska. V nadmořské výšce 303 m n. m. Z geologického pohledu zařazujeme Ostravsko do Karpatské soustavy. Tato lokalita byla vybrána pro svou předpokládanou čistotu životního prostoru. Výzkum probíhal od září roku 2011, prezentované analyzované vzorky byly sbírány během měsíce září až října v roce 2011. Byl sledován pouze jeden druh *Pleurozium schreberi* (Brid.) 1869, tento druh byl vybrán z důvodu velké abundance na stanovišti a pokryvu velké části půd v tamějším lesním společenstvu a pro jeho jednoduché rozpoznání i laiky. V biomonitoringu je tento druh běžně používán, např. ve studii Halleraker et al. (1998), jeho užití je doporučeno manuálem pro monitoring atmosférických těžkých kovů v rámci *International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops*.



Obrázek 1: mapa sběru dat

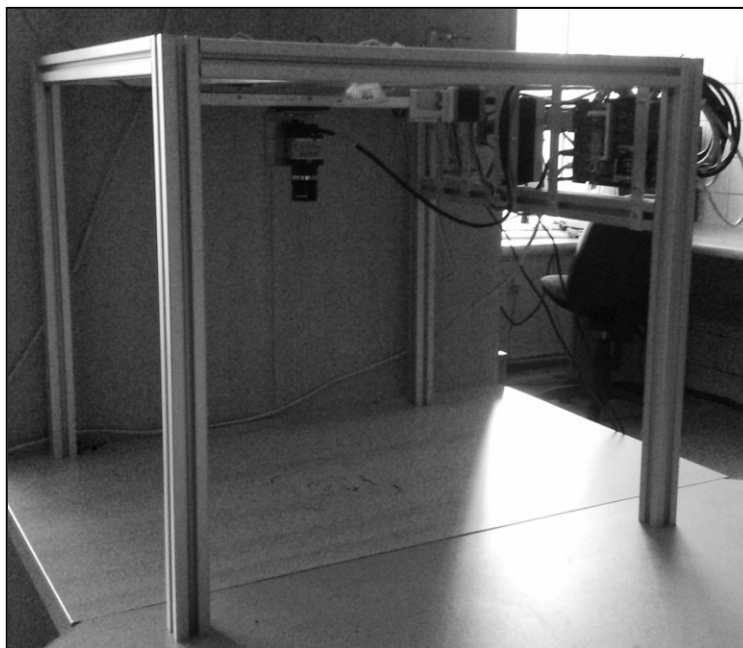
4.2 Příprava vzorků

Po každém odběru byly odebrané exponáty ihned dopraveny do laboratorních podmínek k okamžité úpravě a vysušení. Úprava vzorku spočívala v 30 sekundovém promývání destilovanou vodou pro odstranění adhezujícího substrátu, který mohl ulpět na povrchu mechorostu (odstranění prachu z povrchu). Tato doba je ideální, je dostatečně dlouhá na to, aby se z povrchu smyl adhezující substrát. Zároveň dostatečně krátká na to, aby se nenarušily stěny buněk mechorostů. (Fernández et al., 2008) Po promytí byly vzorky umístěny do Petriho misek. Veškerá manipulace se vzorky probíhala v latexových rukavicích, které byly při každé manipulaci dezinfikovány etanolem a poté opět destilovanou vodou.

Byly použity následující koncentrace a roztoky pro simulaci srážek: Cu 8 mg/l pH 5, Cu 80 mg/l pH 5, Ni 5 pH 5, Ni 50mg/l pH 5, Al 8 mg/l pH 5, Al 80 mg/l pH 5 a kontrolní vzorek. PH 5 typické pro kyselý déšť na Ostravsku. Pro tyto koncentrace bylo rozhodnuto na základě studie Uyğura 2010. Na základě dat z ČHMÚ bylo simulováno 4,5 mm/Petriho miska 2x týdně zářijových srážek, které jsou v Moravskoslezském kraji v tomto měsíci 9 mm týdně. (ČHMÚ, 2009)

4.3 Snímání

Pro potřebu snímání byly ze zápoje sesbíraného z terénu vyjmuty výřezy o velikosti umožnění vložení do Petriho misek. V případě snímání v laboratorních podmínkách byl povrch mechového zápoje snímán přímo v rámci zápoje a nebylo do nich nijak zasahováno. Snímání probíhalo celý měsíc, dvakrát v týdnu, vždy před simulací kroupení a vždy 5 minut po simulaci kroupení.



Obrázek 2: 3D fotogrammetrický skener

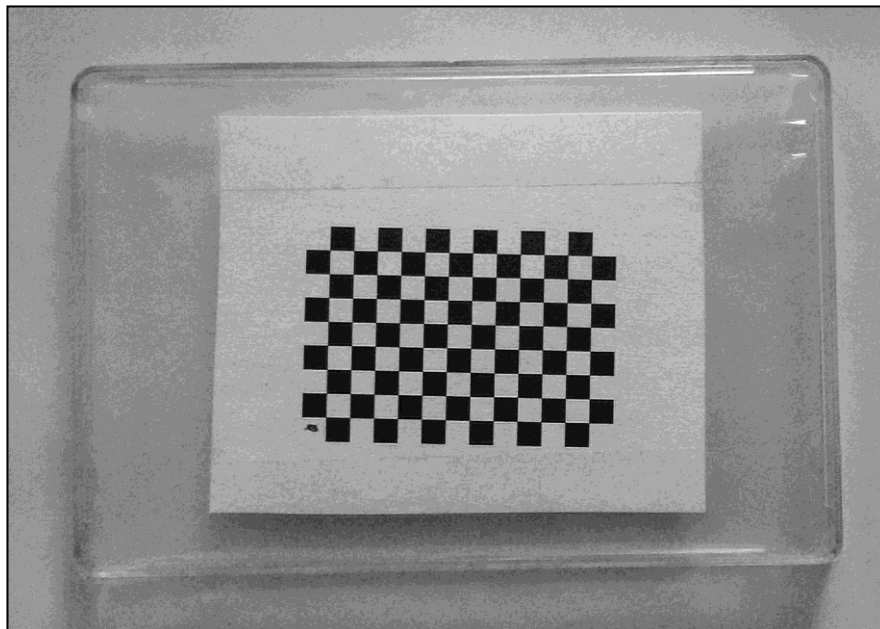
Používané zařízení se skládá z hardwarové části – optický systém kamery a analytické softwarové části k vyhodnocení. Snímání probíhalo kamerou Imaging Development System (2240-M-GL, monochromatické, 1280x1024 pixelů, 1/2“ CCD s čočkami PENTAX, $f = 12\text{ mm}$, $F 1,4$) Při snímání byly použity vždy pomocné světelné zdroje. Celkový pohled na 3D skener je uveden na Obrázku č. 2. (Biostec, 2009)

4.3.1 Kalibrace optického zařízení

Při kalibraci optického zařízení jsou definovány parametry optického systému, což do sebe komponuje určení vestavěných parametrů obou kamer (ohnisková vzdálenost, koeficienty nelineárního zakřivení čoček a pozice základních bodů optické soustavy) a nastavených parametrů mezi oběma kamerami (translační vektor a vektor rotačních úhlů). Kalibrace probíhá ve čtyřech krocích:

1. vytvoření sady kalibračních obrazů (párů snímků kalibračních šablon snímaných kamerami)
2. zpracování nasnímaných šablon (rozpoznání šachovnice kalibrační šablony a jednotlivých kalibračních bodů v ní)

3. předběžný odhad vnitřních (nastavených) a vnějších (nastavitelných) parametrů kamer
4. konečný iterační výpočet všech kalibračních parametrů



Obrázek 3: Kalibrační mřížka

Kalibraci nemusíme provádět při každém snímání ani přímo v místě a čase snímání, ovšem při zachování podmínky zanechání nastavení kamer. (Motyka, 2008)

4.3.2 3D rekonstrukce povrchu mechového zápoje

Po kalibraci optického systému, následuje rekonstrukce povrchu mechového zápoje, který probíhá v pěti následujících krocích:

1. získání snímku zkoumaného mechorostu;
2. korekce geometrického zakřivení snímků;
3. rektifikace snímků;
4. stereomatching;

5. rekonstrukce povrchu mechorostu.

Korekce zakřivení odstraňuje geometrické zakřivení čoček kamer. Byl použit polynomiální model zakřivení s polynomem šestého stupně, koeficienty zakřivení jsou vypočteny při kalibraci.

Pod pojmem rektifikace snímků si můžeme představit aritmetický postup, při kterém jsou oba snímky určené k vytvoření 3D rekonstrukce převedeny na snímky, které by mohly být získány, kdyby osy obou kamer byly paralelní. Rektifikace zjednodušuje následný krok hledání stereokorespondence. Byl vytvořen rektifikační algoritmus, který přepočítává původní, kalibrované projekční matice na projekční matice myšlených kamer s koplanárními projekčními rovinami a paralelními optickými osami. Po rektifikaci mají korespondující body stejnou hodnotu na ose Y. (Motyka, 2008)

4.4 Analýza dat

4.4.1 Výpočet indexu drsnosti povrchu

Výpočet indexu drsnosti povrchu probíhal v programu Canopy calculator a jeho základním cílem bylo stanovení maximální hodnoty variance proměnných pro vzdálenost (oddělovací vektor) h , kde se berou v potaz jen páry hodnot, které jsou prostorově odděleny v intervalu h . (Bachmaier et al., 2008)

Jeden z nejdůležitějších nástrojů geostatické analýzy prostorových dat – variogram byl počítán (Bohling, 2005) takto:

$$\hat{\gamma} = \frac{1}{2n(h)} \sum_{i=1}^{n(h)} (z(x_i + h) - z(x_i))^2$$

Variogram je hodnota variance mezi páry bodů vztažená k intervalu (lag) mezi těmito body. Podle definice Rice et al. (2001) byl pro každý zkoumaný vzorek vypočten index drsnosti povrchu:

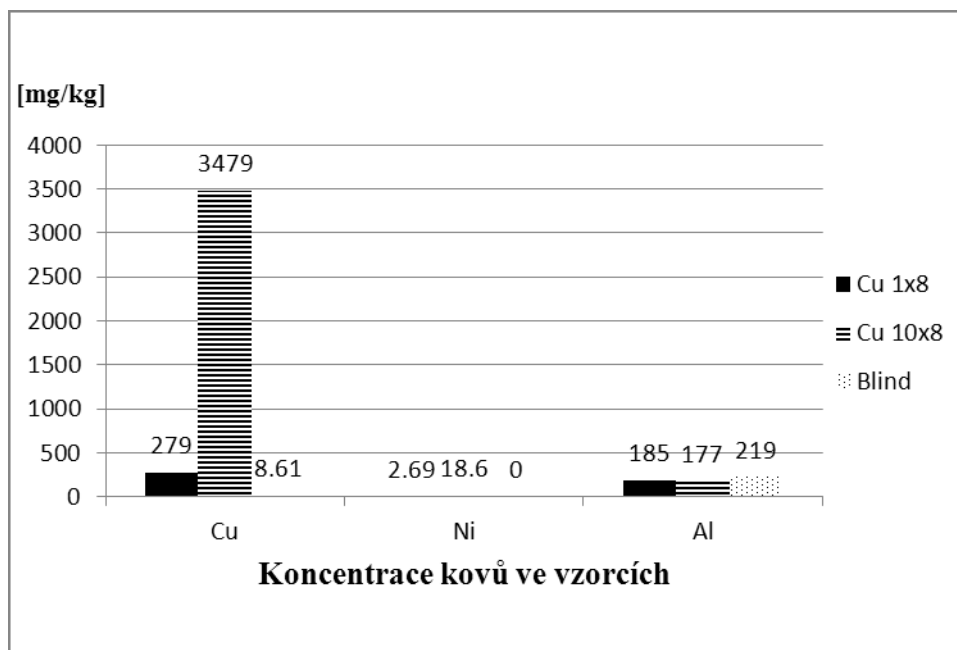
$$L_r = \sqrt{2 \max(\hat{\gamma}(h))}$$

5 Výsledky

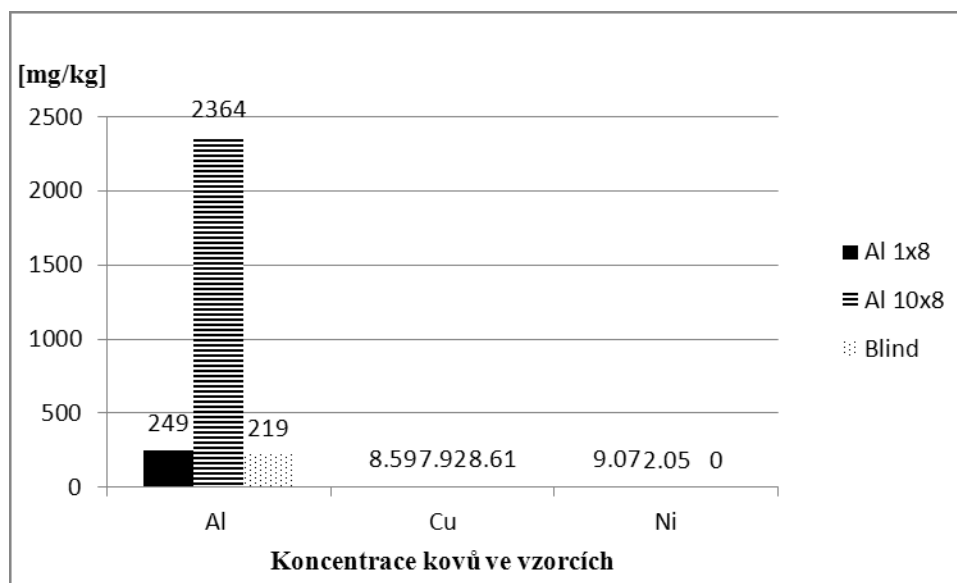
K zhodnocení a prezentaci výsledků jsou popsány následující těžké kovy – hliník (Al), nikl (Ni) a měď (Cu), které se běžně vykytují v ovzduší, ať už z přírodních procesů, anebo antropogenních. Tento výběr kovů má společnou vlastnost, charakterizují ve větší míře antropogenní znečištění, zejména z dopravy a průmyslu. Jedná se zejména o spalování paliv, znečištění z kovovýroby, výroba nerez oceli, výroba slitin atd., což koresponduje se znečištěním na Ostravsku.

5.1 Analýza výsledků ICP-AES

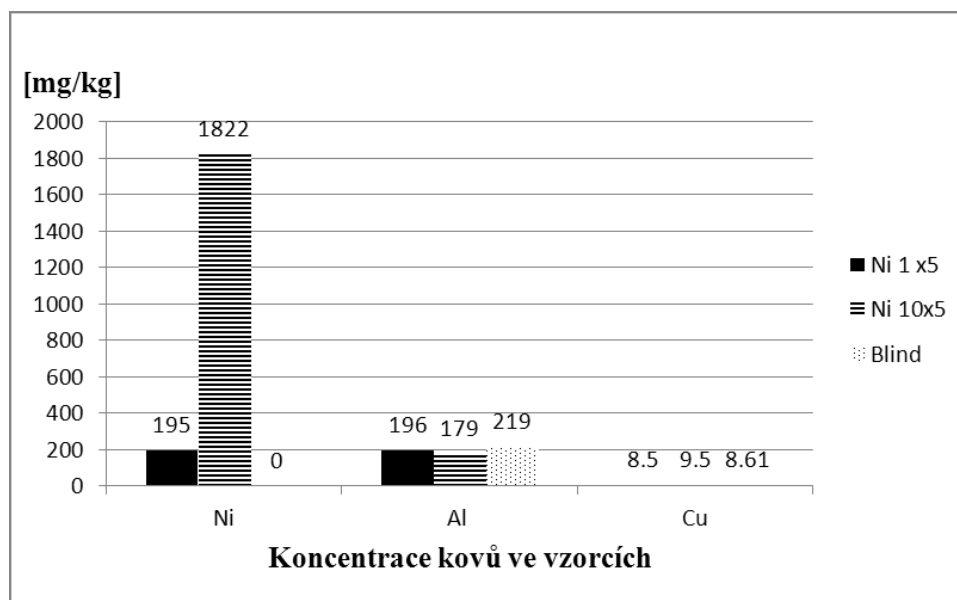
Následující grafy (1-3) popisují naměřené koncentrace prvků v mechu. Byly použity roztoky o koncentracích 8 a 80 mg/l Cu v roztoku při pH 5, 8 a 80 mg/l Al v roztoku při pH 5, 5 a 50 mg/l Ni v roztoku při pH 5 v porovnání s kontrolním vzorkem v mechu druhu *Pleurozium schreberi*. Tabulka s naměřenými hodnotami viz Přílohu 1 Protokol laboratorního měření.



Graf 1: Koncentrace prvku ve vzorcích mechu Cu 8 a 80 mg/l při pH 5



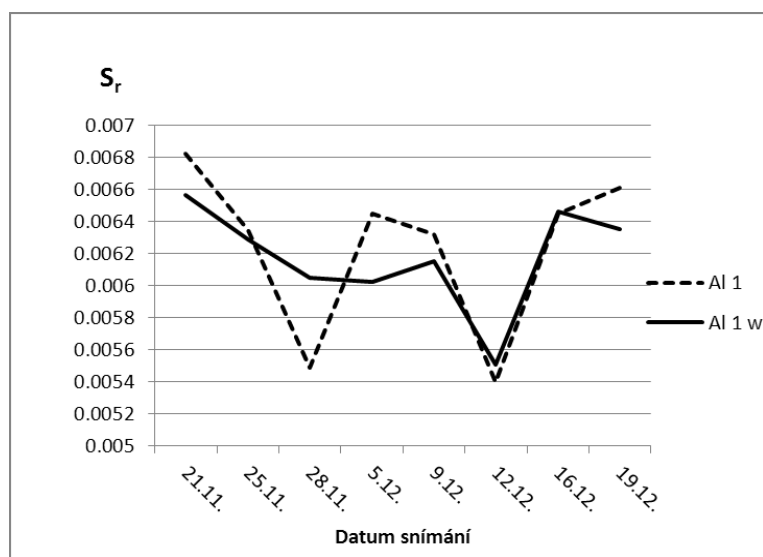
Graf 2: Koncentrace prvku ve vzorcích mechu Al 8 a 80 mg/l při pH 5



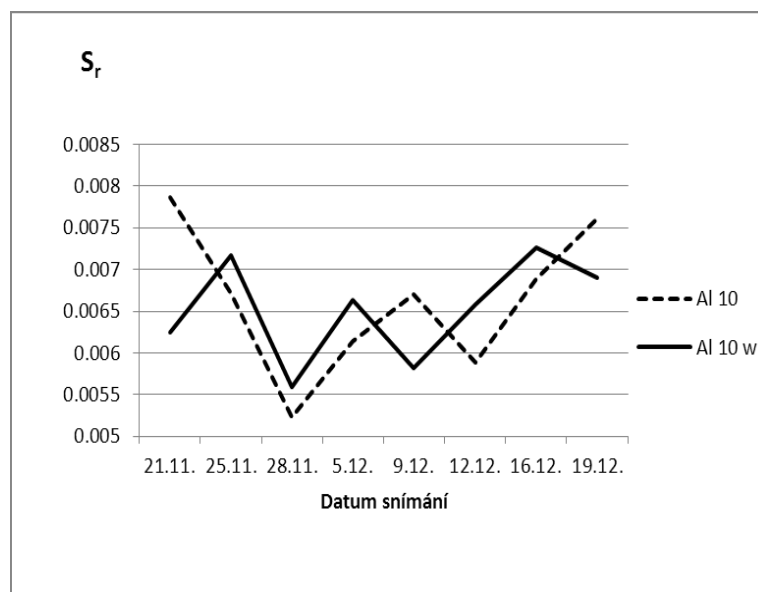
Graf 3: Koncentrace prvku ve vzorcích mechu Ni 5 a 50 mg/l při pH 5

5.2 3D stereofotogrammetrie

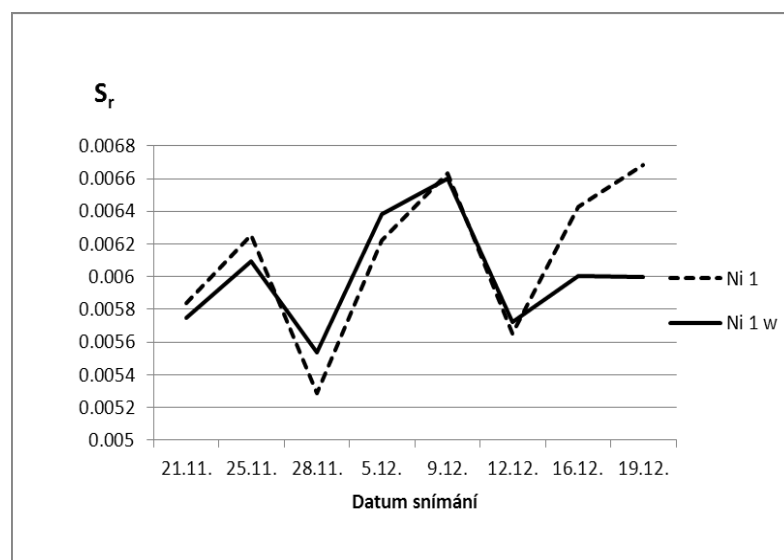
U grafu 4-10 je patrný vývoj indexu povrchové drsnosti (S_r), po dobu jednoho měsíce, simulací zářijovými srážkami (2x týdně, 9 mm) v laboratorních podmínkách po pravidelném kropení roztoky: s Al koncentrací 8 mg/l (graf 4), roztokem Al s koncentrací 80 mg/l (graf 5), roztokem Ni s koncentrací 5 mg/l (graf 6), roztokem Ni o koncentraci 50 mg/l (graf 7), roztokem Cu o koncentraci 8 mg/l (graf 8), roztokem Cu o koncentraci 80 mg/l (graf 9) a slepý vzorek (graf 10) ve vzorku mechorostu druhu *Pleurozium schreberi*. Grafy byly zpracovány programem Microsoft Excel 2010.



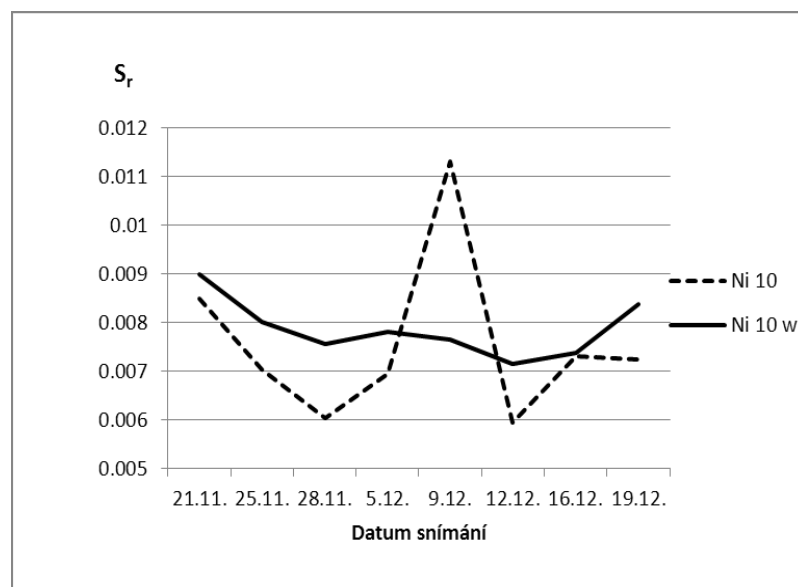
Graf 4: Vývoj povrchového indexu v čase pro HLINÍK s koncentrací



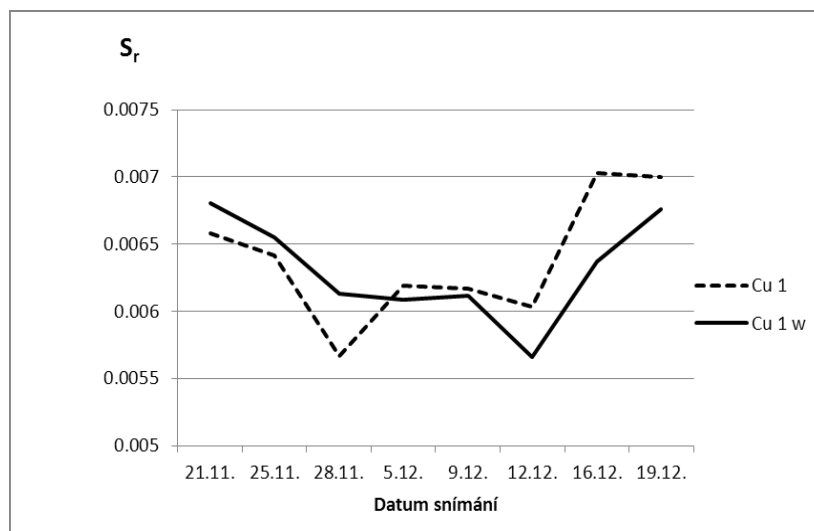
Graf 5: Vývoj povrchového indexu v čase prvku HLINÍK



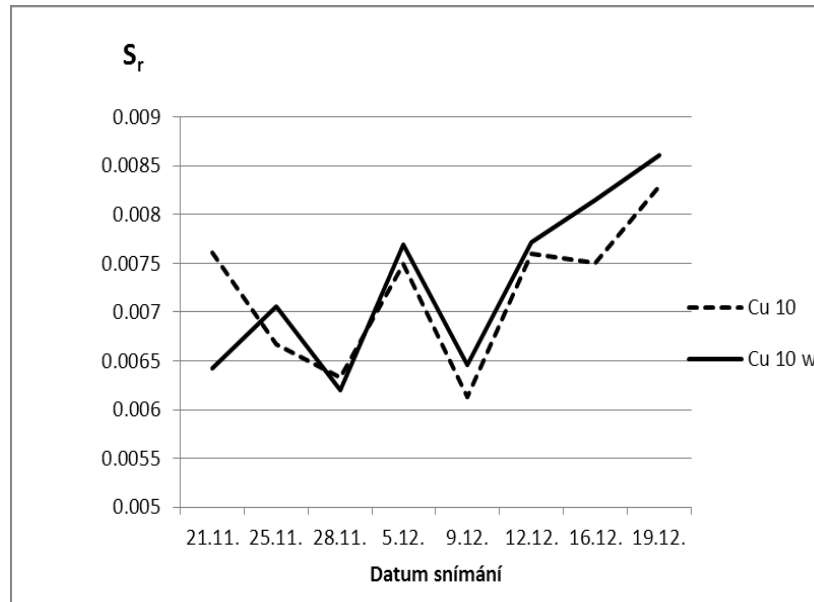
Graf 6: Vývoj povrchového indexu prvku NIKL s koncentrací 5 mg/l ve



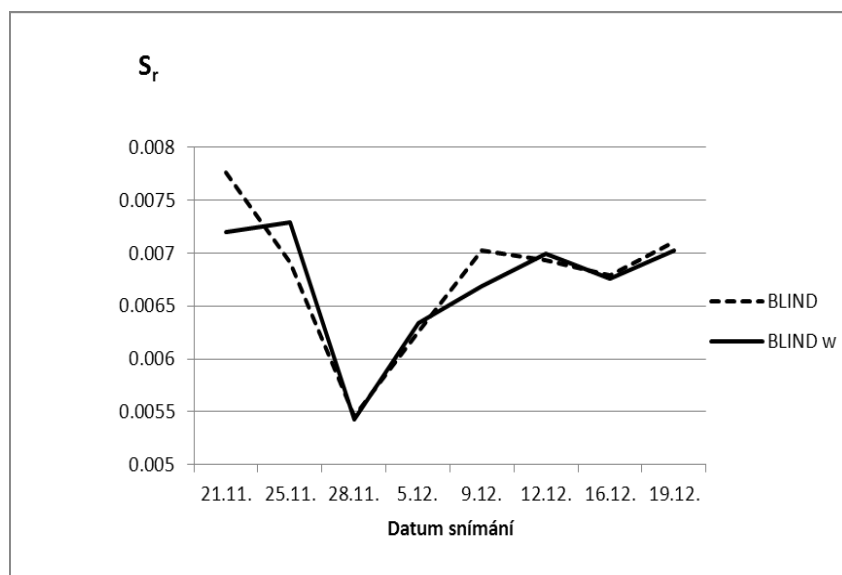
Graf 7: Vývoj povrchového indexu prvku NIKL s koncentrací 50 mg/l ve



Graf 8: Vývoj povrchového indexu prvku MĚ s koncentrací 8 mg/l ve



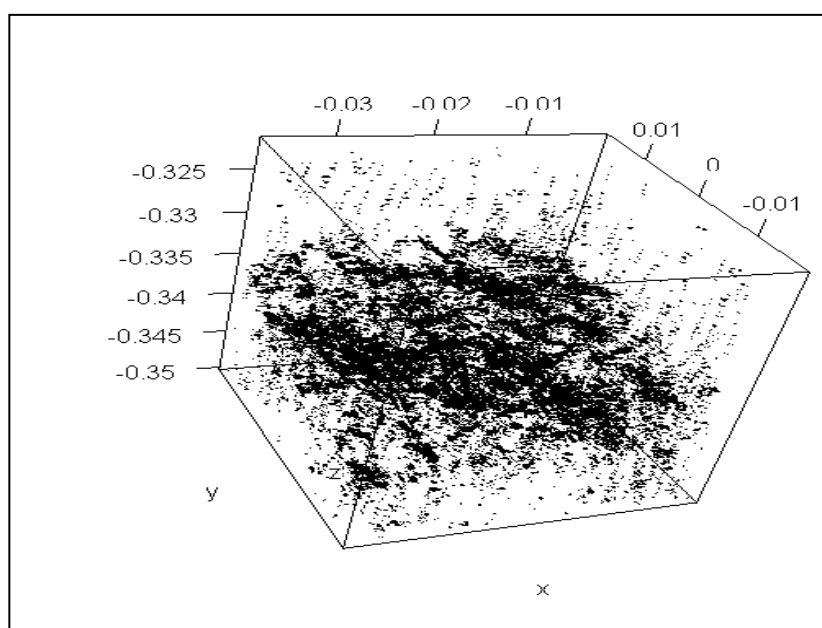
Graf 9: Vývoj povrchového indexu prvku MĚ s koncentrací 80 mg/l ve



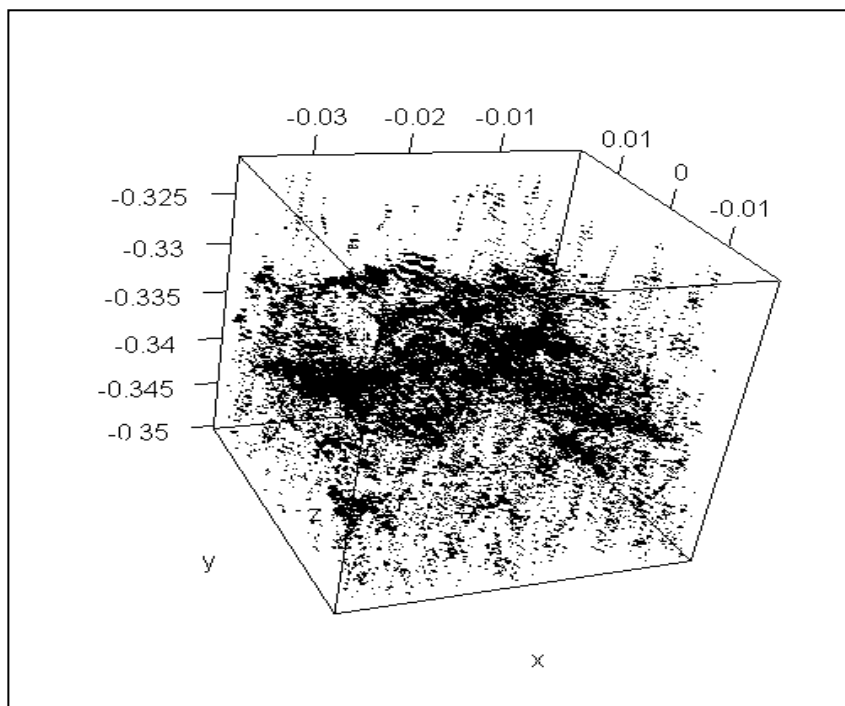
Graf 10: Vývoj povrchového indexu u slepého vzorku v mechorostu

5.3 3D stereofotogrammetrie model mechorového zápoje

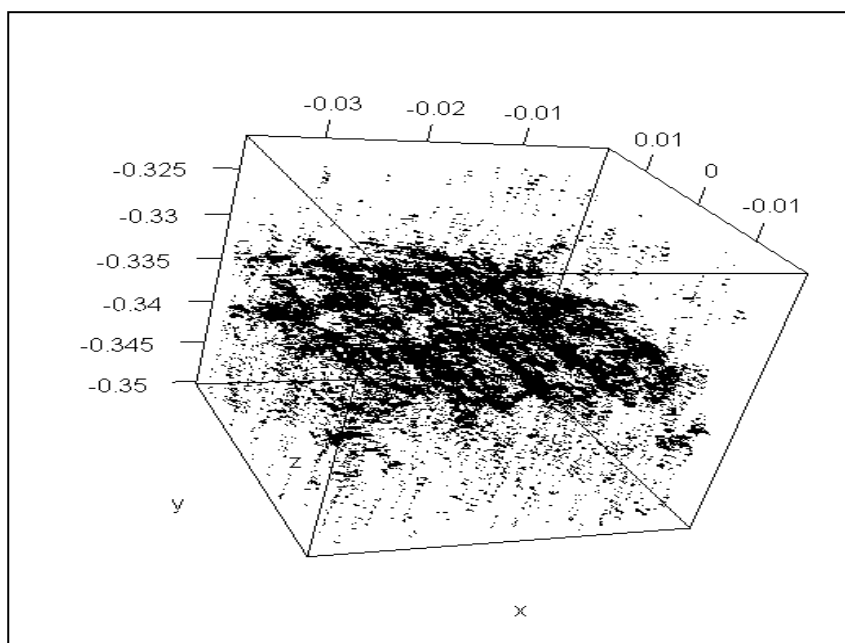
Výsledkem 3D stereofotogrammetrie jsou 3D grafy, které byly zpracovány v programu R 2.15.0. Grafy 11-24 jsou názornou ukázkou snímání vzorků mechorového zápoje ze dne 28.11.2011 vždy před a po simulaci kroupení zářijovými srážkami. Byly použity roztoky: Al s koncentrací 8 a 80 mg/l, Ni s koncentrací 5 a 50 mg/l a roztok mědi s koncentrací 8 a 80 mg/l a kontrolní vzorek.



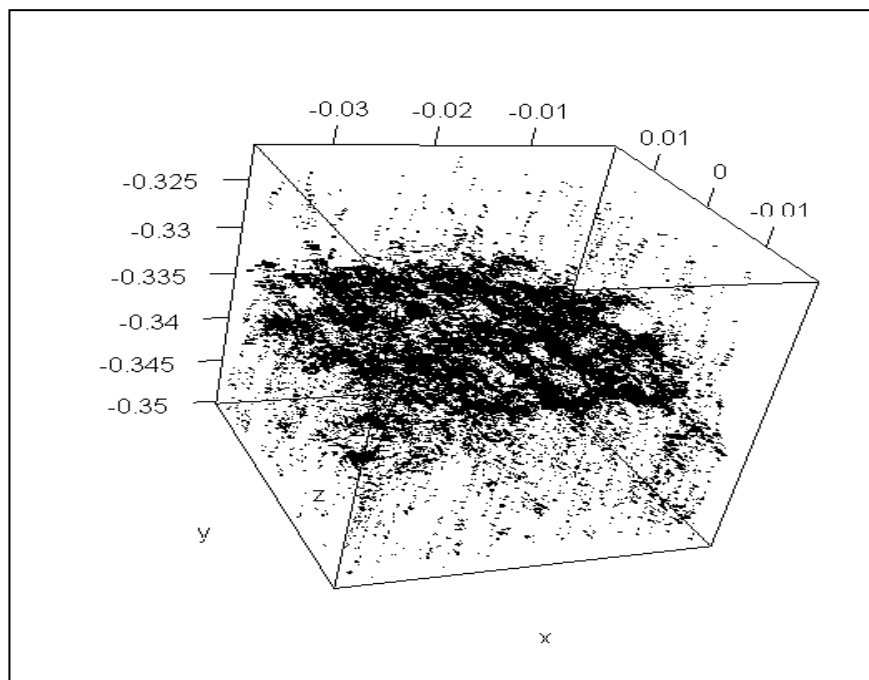
Graf 11: 3D model mechorového zápoie Al c=8 mg/l před expozicí



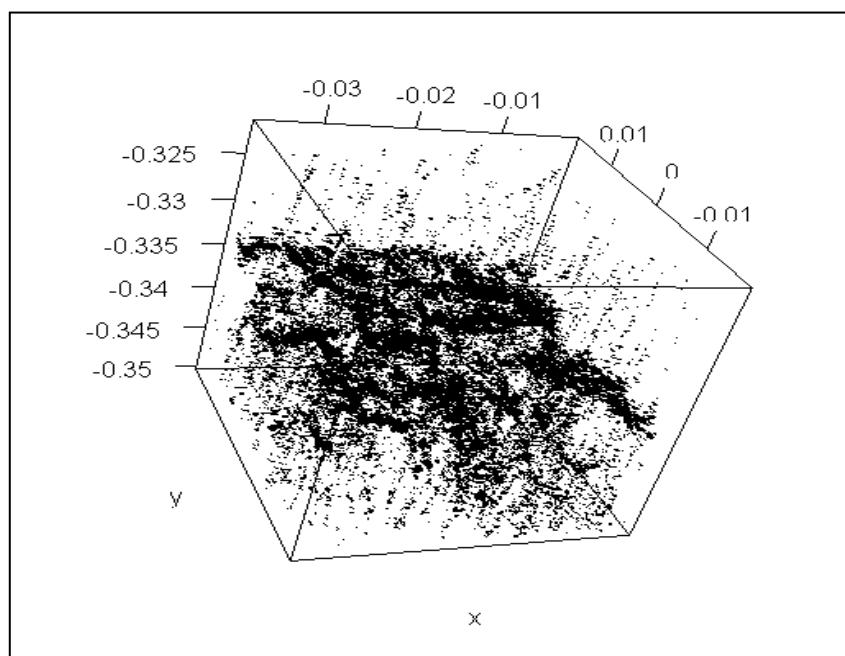
Graf 12: 3D model mechového zápoje Al c=8 mg/l po expozici



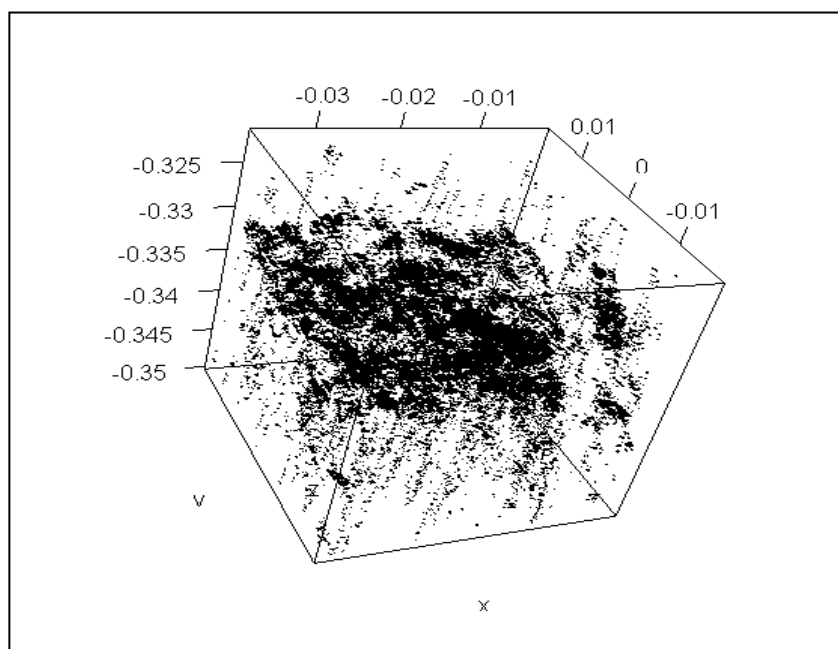
Graf 13: 3D model mechového zápoje Al c=80 mg/l před expozicí



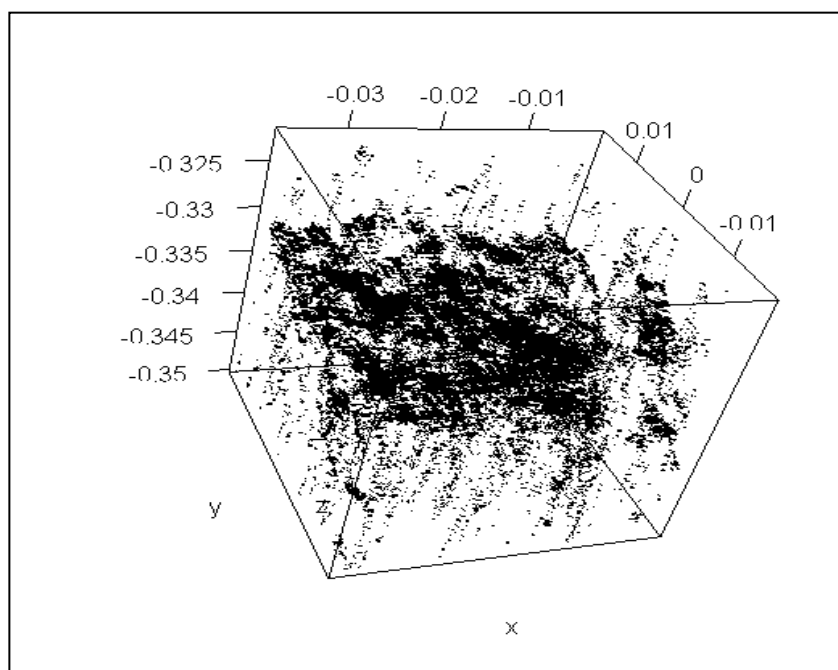
Graf 14: 3D model mechového zápoje Al $c=80$ mg/l po expozici



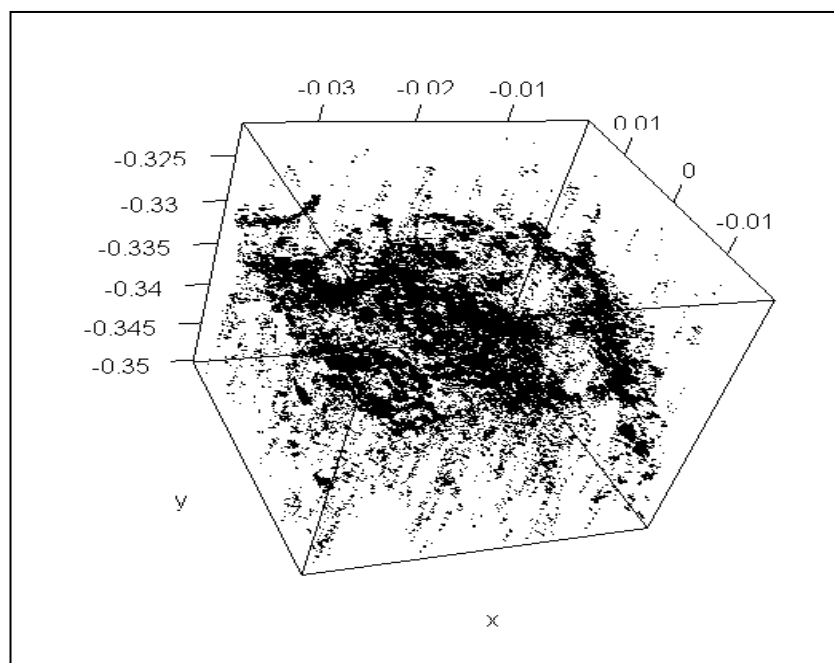
Graf 15: 3D model mechového zápoje Cu $c=8$ mg/l před expozicí



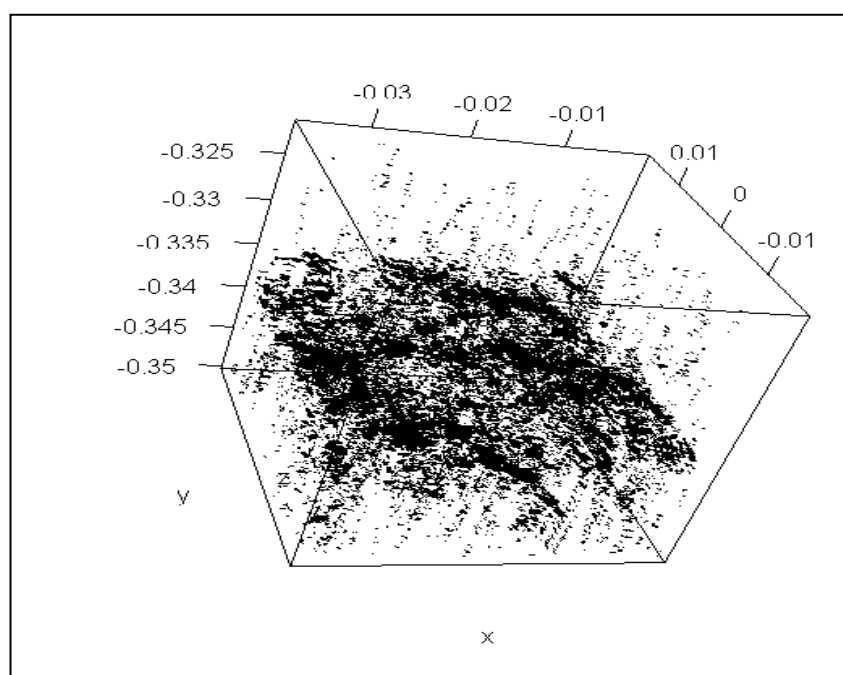
Graf 16: 3D model mechového zápoje Cu c=8 mg/l po expozici



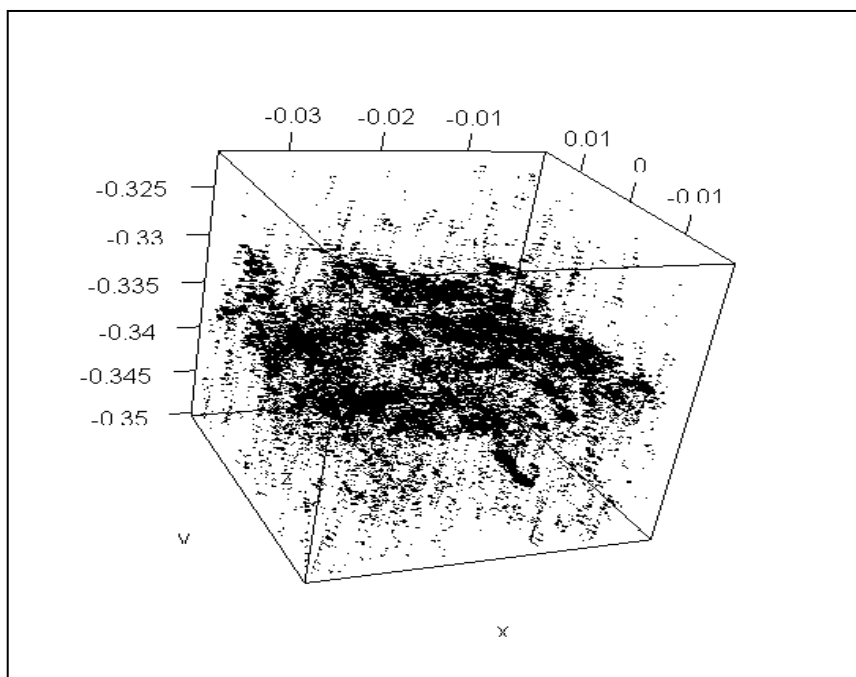
Graf 17: 3D model mechového zápoje Cu c=80 mg/l před expozicí



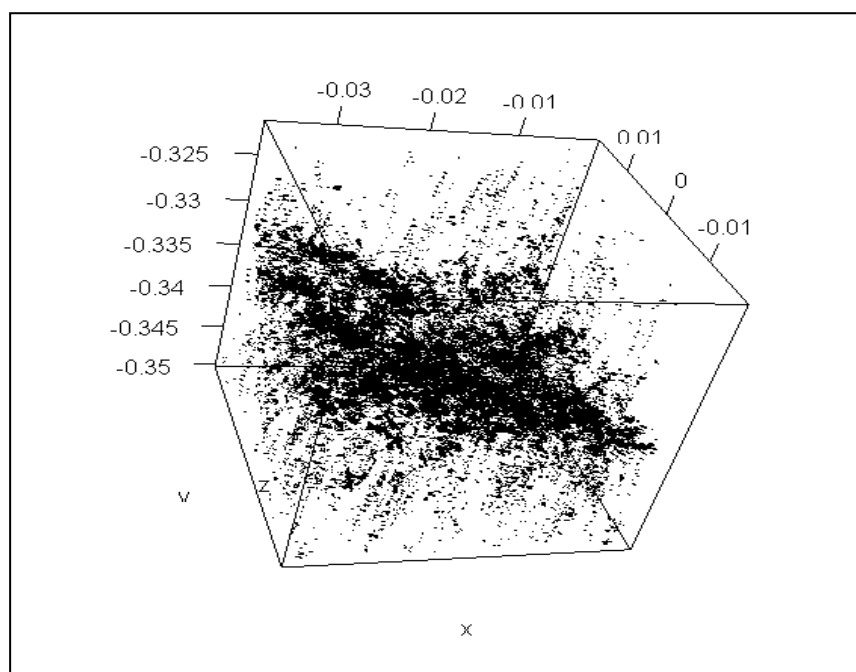
Graf 18: 3D model mechového zápoje Cu c= 80 mg/l po expozici



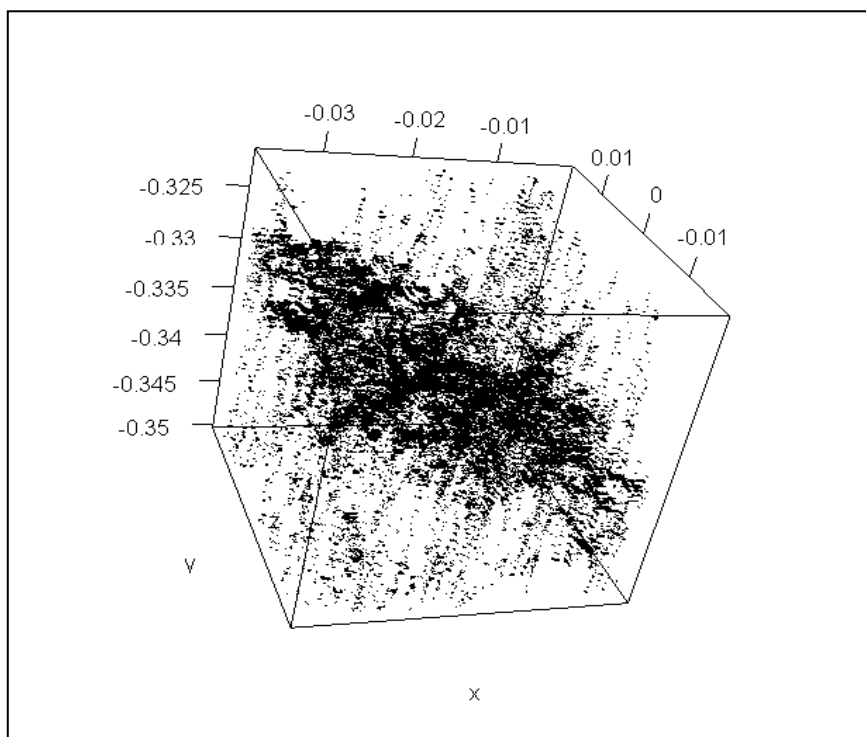
Graf 19: 3D model mechového zápoje Ni c=5 mg/l před expozicí



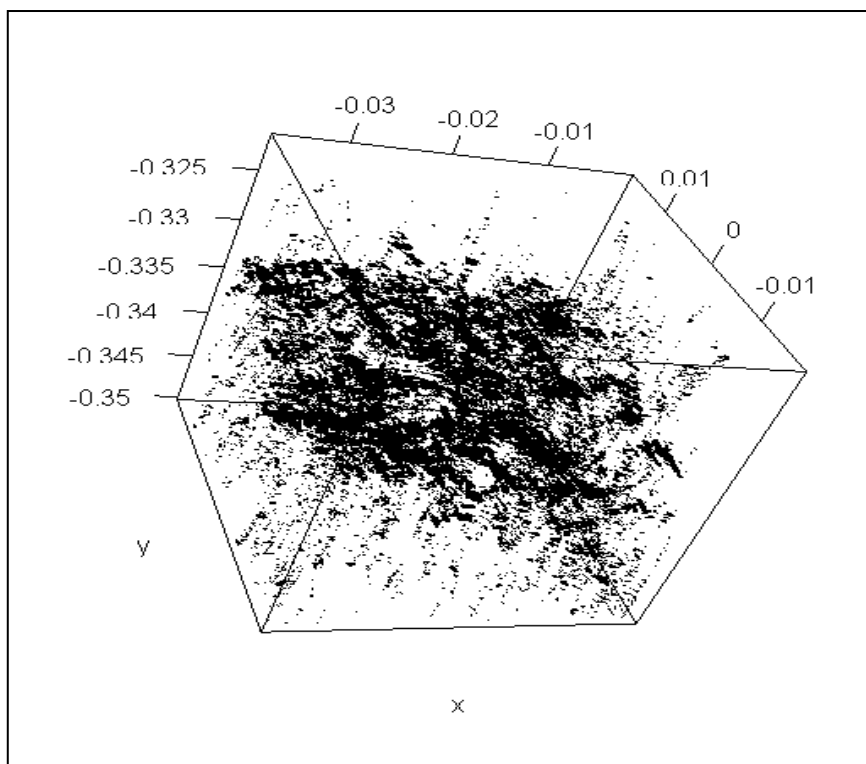
Graf 20: 3D model mechového zápoje Ni c=5mg/l po expozici



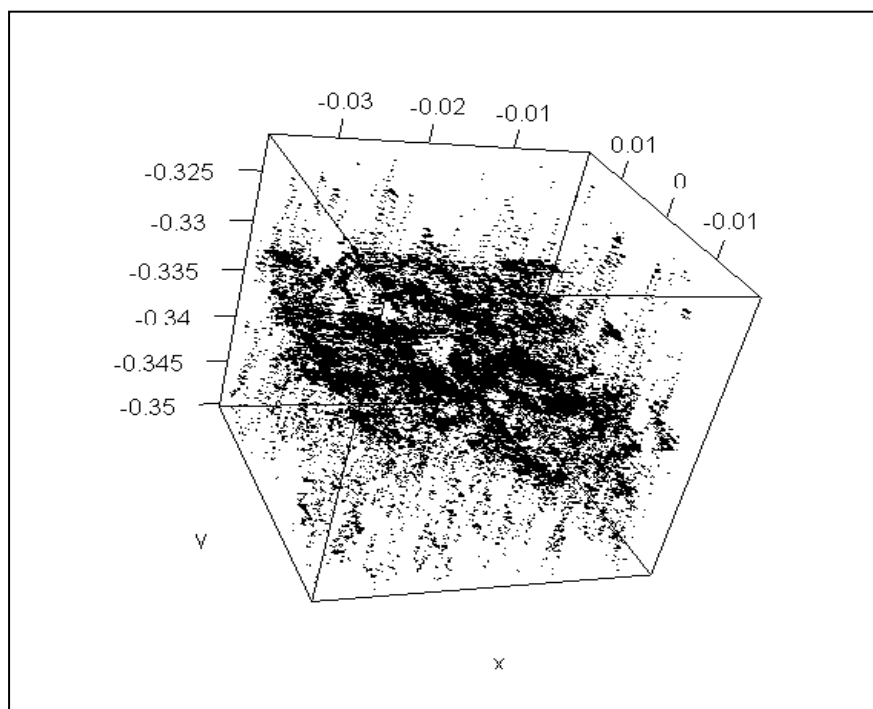
Graf 21: 3D model mechového zápoje Cu c=50 mg/l před expozicí



Graf 22: 3D model mechového zápoje Cu c=50 mg/l po expozici



Graf 23: 3D model kontrolního vzorku před expozicí



Graf 24: 3D model kontrolního vzorku po expozici

6 Diskuze

Celkově bylo provedeno 115 měření v 7 vzorcích 1 druhu mechorostu, z každého snímání byl vytvořen model s cca 70 tisíci body.

Grafy 1-3 charakterizují obsahy koncentrace Cu, Ni a Al v mg/l ve vzorcích mechorostu *Pleurozium schreberi*, exponovaného simulovanými zářijovými srážkami po dobu (2x týdně 9 mm) jednoho měsíce v laboratorních podmínkách. Je patrné, že koncentrace roztoku Cu ve vzorku mechu s koncentrací 8 mg/l (Graf 1) je koncentrace opravdu přibližně 10x větší než při koncentraci 80 mg/l, což si můžeme vysvětlit schopností mechu akumulovat. Graf 2 znázorňuje koncentraci hliníku v roztoku ve vzorcích s mechem o koncentraci 8 a 80 mg/l a Graf 3 koncentraci roztoku niklu s koncentracemi 5 a 50 mg/l v mechu. U Grafu (1 a 3) nemůžeme přehlédnout zvýšenou koncentraci hliníku ve vzorcích mechorostu, která se podobá simulované koncentraci roztoku s hliníkem. Tuto skutečnost můžeme přisoudit zvýšené emisní zátěži na Ostravsku průmyslovým znečištěním. Zdrojem hliníku v atmosféře je hlavně půdní prach, v průmyslových oblastech z kovovýroby, spalování paliv atd. může být zvýšená koncentrace patrnější. (Delhaize, 1993) V souvislosti s antropogenním znečištěním dochází k snížení pH srážek, což má za příčinu mobilizaci hliníku v půdách a tedy vzrůstu koncentrace hliníku ve vodách. Při poklesu pH půdy pod 5 se hliník stává rozpustným v půdním roztoku a potenciálně škodlivým pro rostliny (Kochian et al., 2005). Fytotoxicita Al je problémem u kyselých půd (pH pod 5,5). Z hlediska toxického působení na rostliny jsou významné ty formy hliníku, které jsou obsažené v půdním roztoku. Za hlavní toxickou formu hliníku je všeobecně považován Al^{3+} (Horák et al. 1995)

Graf 1 charakterizuje koncentraci kovů ve vzorcích mechu Cu 8 a 80 mg/l při pH 5. Můžeme si povšimnout patrného obsahu ostatních dvou prvků: niklu a hliníku. Prvek nikl je v této skutečnosti zanedbatelný avšak obsah hliníku je poměrně vysoký, což můžeme přisoudit znečištění ovzduší na Ostravsku nebo také možnou chybou měření.

Graf 2 charakterizuje koncentrace kovů ve vzorku mechorostu *Pleurozium schreberi* kroupenými roztokem s koncentracemi Al 8 a 80 mg/l při pH 5. Je patrná zvýšená koncentrace niklu i mědi oproti kontrolnímu vzorku. Obsah niklu a mědi ve vzorku mechu se pohyboval okolo 10 mg/l včetně kontrolního vzorku, což přisuzujeme normálnímu stavu

prostředí. Mírné zvýšené obsahy kovů přisuzujeme znečištění ovzduší. Jak už je v práci uvedeno, obsah niklu v ovzduší je způsoben následujícími majoritními složkami: spalování fosilních paliv a odpadů, proces těžby a zpracování niklových rud, ocelářského průmyslu, rafinerie ropy a plynu, těžba a zpracování niklu a aplikace čistírenských kalů do půdy, spalování komunálního odpadu, nelze opomenout znečištění z dopravy-spalovací procesy a další.

Graf 3 charakterizuje koncentrace kovů ve vzorku mechu *Pleurozium schreberi* kropeným roztokem Ni o koncentracích 5 a 50 mg/l. V grafu je patrný zvýšený obsah hliníku. V Grafech 1-3 je patrný vysoký obsah hliníku, což na Ostravsku není nijak zvláštní skutečnost. Emise hliníku vznikají z následujících činností: půdní prach, v průmyslových oblastech z kovovýroby, spalování paliv atd.

U grafů 4-10 je patrný vývoj indexu povrchového drsnosti (S_r) ve vzorcích mechorostu *Pleurozium schreberi* po dobu jednoho měsíce, kdy probíhala expozice simulovanými srážkami s kyselým pH a to roztoky s koncentrací hliníku 8 a 80 mg/l, niklu s koncentrací 5 a 50mg/l a mědi s koncentrací 8 a 80 mg/l. Rozdílné koncentrace simulovaných roztoků jsou odlišeny rozdílnými křivkami. V Grafech 4-10 je patrná změna pohybu křivky přibližně v druhém týdnu snímání. Takovouto změnu si můžeme vysvětlit různě, např. mechový zápoj může reagovat na náhlou změnu expozicí roztoky s prvky a rozdílným pH (před sběrem a během výzkumu). V dalších týdnech křivka pomalu vzrůstá, to si můžeme vysvětlit jako pomalou adaptaci na stresový účinek. U Grafu 7 roztoku Ni s koncentrací 50 mg/l se tento jev neprojevuje, tuto informaci můžeme přisoudit mnoha faktorům např. i špatné manipulaci se vzorky nebo chybným měřením.

Další zajímavostí u Grafů 4-10 je patrná schopnost akumulace mechorostu. Z grafů je patrné, že mechový zápoj akumuloval větší koncentraci a větší množství „znečištěného“ roztoku bez nevelkých fyziologických následků. Tato informace vyplývá z ne extrémních hodnot (ne extrémní reakce) na roztok s kyselým pH bez velkých fyziologických následků na povrchu mechu. U vzorku mechu exponovaného roztokem Al s koncentrací 80 mg/l byla patrná i změna vizuální. Vzorek mechu v 3. týdnu simulace kyselým roztokem jevil známky změny barvy do škály žluté až fosforově žluté. Ovšem tato informace může být subjektivním dojmem. Víme, že při kyselém pH se hliník stává „toxickým“ zejména jeho forma Al^{3+} . V nadzemních částech u cévnatých rostlin se toxicita hliníku projevuje

žloutnutím, zpomalováním vývoje a odumíráním pupenů, nekrózami a ztrátou apikální dominance (Foy, 1983). U rostlin vystavených nízkému pH a zvýšené koncentraci Al byly zjištěny dva hlavní mechanismy zajišťující toleranci rostlin k hliníku. Jedná se o schopnost omezit vstup Al do pletiv kořenů (apoplastický mechanismus) nebo naopak snášet vysoké koncentrace Al v těchto pletivech (symplastický mechanismus). (Cuenca et al., 1990).

Výsledkem 3D stereogrammetrie jsou 3D grafy, které byly zpracovány v programu R 2.15.0. Ukázkové Grafy 11-24 jsou názornou ukázkou snímání vzorků mechového zápoje ze dne 28.11.2011 vždy před a po simulaci kroupení zářijových srážek. Použité roztoky: Al s koncentrací 8 a 80 mg/l, Ni s koncentrací 5 a 50 mg/l a roztok mědi s koncentrací 8 a 80 mg/l a kontrolní vzorek.

U skenování získáváme soubor hloubkových měření, která odpovídají vzdálenosti od výchozí polohy měřicího zařízení, tedy od kamerového systému. Prakticky není možné zaručit, aby byla měření vztažena k reálné nule, poloha měřicího zařízení a mechového zápoje jednotlivých vzorků se mění a není možné přesně definovat skutečnou výšku mechového zápoje. Hodnoty indexu (viz Příloha 2) naměřené ze snímání odporují jeho typickému habitatu – u všech získaných indexů jsou patrné změny hodnot. Zdá se, že došlo k intenzivní změně v povrchové struktuře. Mechový zápoj byl exponován kyselému roztoku s rozdílnými koncentracemi, což vedlo k fyziologickým změnám na povrchu mechorostu, možná je i špatná manipulace se vzorky nebo chyba měření. U mechového zápoje bude docházet ke kumulaci měření v jejich vrchních vrstvách, protože jsou měřicím technikám nejdostupnější, tento fenomén bude ještě výraznější u zápoje, který je charakterizovaný větším množstvím, případně větší plochou lístků v exponovanějších vrstvách. Nejen z tabulárních výsledků hodnot indexů, ale také vizuálního posouzení došlo u povrchu mechu k viditelným změnám a to: změna barvy, změna velikosti a pospolitosti zápoje, viditelné vyschnutí a stažení lístků.

7 Závěr

V práci bylo sledováno působení kyselého deště na povrch a fyziologii mechorostu druhu *Pleurozium schreberi*, z toho vyplývající možné využití bioindikace mechorostů k znečištění území těžkými kovy. Pomocí 3D stereofotogrammetrie byly získány modely druhu mechorostu *Pleurozium schreberi*, který byl využit k analýze povrchové struktury – výpočtem indexu povrchové drsnosti mechorostu S_r . Index povrchové drsnosti nám vykazuje kvalitu mechorostu, jakožto velmi dobrého ukazatele ekofyziologických vlastností stavu mechorostu. Mechorost je důležitým indikátorem stavu ekosystému, jeho důležitou funkcí je schopnost vodu v prostředí zadržovat a postupně ji uvolňovat. Z výsledků hodnot povrchového indexu mechorostu po simulaci roztoku s kyselým pH na povrch mechorostu vyplývá značný vztah mezi roztokem, který na povrch mechorostu působil. Je nutno upozornit, že vzorek mechorostu byl sbírán volně v přírodě, je tedy možné jeho zkreslení možnou variabilitou prostředí.

Největším přínosem této práce je potvrzení, že se mechorosty dají využít jako možný bioindikátor emisního zatížení prostředí. Zejména po expozici těžkými kovy.

Cíl práce byl splněn, a to ve všech bodech zadání, kromě bodu 2.2. Možného experimentálního zhodnocení možnosti pěstování klonální kultury *Leucobryum glaucum*. Tuto část nešlo splnit z důvodu pozdního dodání kultury mechorostu objednaného z Culture Collection of Autotrophic Organisms (CCALA) z botanického ústavu z Třeboně.

Příloha 1



CENTRUM NANOTECHNOLOGIÍ
VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ - TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA
17. LISTOPADU 15, 708 33 OSTRAVA – PORUBA

tel.: 597 321 549 (1545)
E-Mail: jana.seidlerova@vsb.cz

fax: 597321640

PROTOKOL O PROVEDENÍ ZKOUŠEK

Číslo protokolu: 122/12

Strana č.: 1
Počet stran protokolu: 2
Počet stran příloh: 0

Zákazník: Mgr. O. Motyka, CNT, Ostrava – Poruba

Číslo zakázky CNT: 017 -12

Předmět zkoušek: biologický materiál (mech)

Původní označení	Číslo vzorku CNT
1	524/12
2	525/12
3	526/12
4	527/12
5	528/12
6	529/12
7	530/12

Požadované analýzy: Kvantitativní analýza těžkých kovů Al, Cu, Hg a Ni.

Datum přijetí vzorků: 12.3.2012

Datum provedení zkoušek: 19. – 28.3.2012

Popis odběru vzorků: Vzorky byly odebrány zadavatelem, CNT neručí za chyby vzniklé nesprávným vzorkováním.

Použité metody:

SOP č.	Modifikace metody	Metoda
OAA-05-04		Stanovení Hg analyzátozem AMA 254
OAA-06-01B		Stanovení Al, Cu a Ni metodou ICP-AES



CENTRUM NANOTECHNOLOGIÍ
VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ - TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA
17. LISTOPADU 15, 708 33 OSTRAVA – PORUBA

tel.: 597 321 549 (1545)
E-Mail: jana.seidlerova@vsb.cz

fax: 597321640

PROTOKOL O PROVEDENÍ ZKOUŠEK

Číslo protokolu: 122/12

Strana č.: 2
Počet stran protokolu: 2

Výsledky zkoušek:

Číslo vzorku CNT	Al [mg/kg]	Cu [mg/kg]	Hg [mg/kg]	Ni [mg/kg]
524/12	185	279	0,012	2,69
525/12	177	3474	<0,005	18,6
526/12	196	85	<0,005	195
527/12	179	9,5	<0,005	1822
528/12	249	8,59	<0,005	9,07
529/12	2364	7,92	<0,005	2,05
530/12	219	8,61	0,028	< 2

Nejistota stanovení: Al – 4 %, Cu – 2 %, Hg – 10 % a Ni – 5%.

Datum vystavení protokolu: 29.3.2012

Výsledky zkoušek se týkají pouze předmětu zkoušky a nenahrazují jiné dokumenty (např. správního charakteru), které jsou orgány státního odborného dozoru podle specifických předpisů požadovány.

Protokol může být reprodukován jedině celý, jinak pouze s písemným souhlasem ředitele CNT.

Protokol vypracoval:
Ing. Šárka Tomisová

Odpovědný pracovník:
prof. Ing. Jana Seidlerová, CSc.
vedoucí oddělení anorganické analýzy

Ředitel CNT:
prof. Ing. Jaromír Pištor, CSc.

Příloha 2: hodnoty indexu drsnosti povrchu

datum	BLIND	BLIND w	Al 1	Al 1 w	Al 10	Al 10 w	Cu 1	Cu 1 w	Cu 10	Cu 10 w	Ni 1	Ni 1 w	Ni 10	Ni 10 w
21.11.	0,007765	0,007202	0,006821	0,006562	0,00787	0,006249	0,006582	0,006808	0,007606	0,006421	0,005836	0,005749	0,008495	0,008979
25.11.	0,006916	0,007292	0,006345	0,006288	0,006714	0,007165	0,006414	0,00655	0,006668	0,007054	0,006254	0,006092	0,007044	0,008007
28.11.	0,005462	0,005431	0,005489	0,006051	0,005234	0,005596	0,005669	0,006131	0,006328	0,006199	0,005286	0,005535	0,006043	0,007569
5.12.	0,006252	0,006334	0,006446	0,006023	0,006134	0,006629	0,006191	0,006088	0,007488	0,007693	0,006225	0,006385	0,006944	0,007809
9.12.	0,007027	0,006685	0,006319	0,006151	0,006707	0,005813	0,006168	0,006116	0,006125	0,006458	0,006635	0,006601	0,011312	0,007652
12.12.	0,00693	0,006997	0,005397	0,005508	0,005889	0,006582	0,006031	0,005657	0,007596	0,007718	0,00565	0,005726	0,005952	0,007149
16.12.	0,006789	0,006762	0,006447	0,006461	0,006886	0,007265	0,007032	0,00637	0,007503	0,008145	0,006426	0,006006	0,007312	0,007382
19.12.	0,007107	0,007023	0,006608	0,006352	0,007616	0,006906	0,006998	0,006761	0,008288	0,008612	0,006686	0,006	0,007243	0,008385

Citace

BACHMAIER, M. & BACKES, M., 2008: *Variogram or semivariogram?*– explaining the variances in variogram. *Precision Agriculture*, pp. 9: 173-175.

BAKER, A.J.M., McGRATH, S.P., REEVES, R.D. & SMITH, J.A.C.: *Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils; in Phytoremediation of Contaminated Soil and Water* 2000 (Terry, N. & Banuelos, G., eds.) pp. 85-107, Lewis Publisher, Boca Raton.

BATES, J.W.: *Is „life form“ a useful concept in bryophyte ecology?* 1998 *Oikos*, pp. 82: 223-237.

CALZONI, G. L.; ANTOGNONI, F.; PARI, E.; FONTI, P.; GNES, A.; SPERANZA, A. *Active biomonitoring of heavy metal pollution using Rosa rugosa plants*. *Environmental Pollution*. 2007, vol. 149, pp. 239-245.

CATALDO, D.; GARLAND, T.; WILDUNG, R.: *Nickel plants* 1978, *Plant Physiol*, 62, pp. 563-562

CUENCA G., MEDINA E.: *Aluminium tolerance in trees of a tropical cloud forest*. 1995 *Plant Soil*, 125, pp. 169-175.

ČERNÁ, M.; SPĚVÁČKOVÁ, V.; *Population-based biomonitoring in the Czech Republic - the system and selected results*. *The Science of the Total Environment*. 1997, vol. 204, pp. 263-270.

ČHMÚ: *úsek ochrany čistoty a ovzduší: znečištění ovzduší na území České republiky v roce 2008*, vydalo čhmú 2009, ISBN: 978-80-86690-71-1

DELHAIZE E, CRAIG S, BEATON CD, BENNET RJ, JAGADISH VC, RANDALL PJ: *Aluminum tolerance in wheat (Triticum aestivum L.). I. Uptake and distribution of aluminum in root apices*. 1993 *Plant Physiology* 103 pp. 685-693.

FALLA, J., LAVAL-GILLY, P., HENRYON, M., MORLOT, DOMINIQUE & FERARD, J.-F.: *Biological air quality monitoring: a review*, *Environmental Monitoring and Assessment* 64, 2000 pp. 627-644.

FERNÁNDEZ. J. Á., ABOAL, J. R., REAL, C., CARBALLEIRA, A.: *A new moss biomonitoring method for detecting sources of small scale pollution*. *Atmospheric Environment*. 2007, vol. 41, pp. 2098-2110.

FLEMING, A. L. and C. D. FOY.: *Root structure reflects differential aluminum tolerance in wheat varieties*. 1968 *Agron. J.* pp. 60:172-176

FORSYTH, D.A. & PONCE, J.: *Computer vision: A new approach*.-Prentice Hall, Upper Sandler River 2003, pp. 813

FOY C.D. 1983: *The physiology of plant adaptation to mineral stress*. 1983 *Iowa St. J. Res.*, pp. 57, 355-391.

GADD GM.: *Interactions of fungi with toxic metals*. 1993 *New Phytologist* pp. 124: 25±60.

GLIME J. M.: *Response of two species of Fontinalis to isolation from stream water*. 1971 *Bryologist* pp. 74: 383-386.

GLIME , J. M.: *Bryophytes ecology textbook*. Volume 1. Physiological ecology. – Michigan technological university. 2007, online.

GOFFINET, B.: *Bryophyte Biology*, Second Edition. – CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS 2008, pp. 266

GORSHKOV VV.: *Epiphytic lichens in polluted and unpolluted pine forests of the Kola peninsula*. In: Kozlov MV, Haukioja E, Yarmishko VT, eds. *Aerial pollution in Kola peninsula: Proceedings of the International Workshop, April 14±16, 1992, St. Petersburg*. 1993 Apatity: Kola Scienti@c Centre, pp. 279±289.

GUNSÉ, B., POSCHENRIEDER, Ch. & BARCELÓ, J.: *Water transport properties of roots and root cortical cells in proton- and Al-stressed maize varieties*. 1997 Plant Physiol. pp. 113, 595-602.

HALLERAKER JH, REIMANN C, De CARITAT P, FINNE TE, KASHULINA G.: *Reliability of moss (Hylocomium splendens and Pleurozium schreberi) as a bioindicator of atmospheric chemistry in the Barents region: interspecies and field duplicate variability*. Sci Total Environ 1998; pp. 218:123 –139.

HECHT-BUCHHOLZ CH. 1983.: *Light and electron microscopic investigations of the reactions of various genotypes to nutritional disorders*. Plant and Soil pp. 72: 151±165.

HORÁK V., DOLEJŠKOVÁ J., HEJTMÁNKOVÁ A. (1995): *Toxicita hliníku v rostlinách*. Rostl. Výr., pp. 41, 239-245.

HOSOKAWA, T., Miyata, I.: *Seasonal variations of the photosynthetic efficiency and chlorophyll content of epiphytic mosses*. 1961 Ecology pp. 42: 766-775.

KOCHIAN L.V., HOEKENGA O.A.: *The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminium resistance and toxicity*. 2005 Plant Soil, pp. 274, 175-195.

KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KLUMPP, G.; CALATAYUD, V.; GARREC, J.-P.; HE, S.; PEQUELAS, J.; RIBAS, À., RO-POULSEN, H.; RASMUSSEN, S.; SANZ, M. J.; VERGNE, P.: *Ozone pollution and ozone biomonitoring in European cities*. Part I: Ozone concentrations and cumulative exposure indices at urban and suburban sites. Atmospheric Environment. 2006, vol. 40, pp. 7963-7974.

KRUMNIKL, M., SOJKA, E. & GAURA, J., MOTYKA, O.: *A new method For bryophyte canopy analysis based on 3D surface reconstruction*, In: Proceedings of CISIM 2008, International Conference, 7th Computer Information Systems and Industrial Management Applications, 2008, pp. 210-211.

KRUMNIKL, M., SOJKA, E., GAURA, J., MOTYKA, O.: *Three-dimensional Reconstruction of macroscopic features in biological materials*. In: Fred, A., Filipe, J.,

Gamboa, H. (Eds): BIOSTEC 2009, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2010, pp. 225-234

LECHOWITZ MJ. *The effects of simulated acid precipitation on photosynthesis in the caribou lichen*. 1982 Water, Air and Soil Pollution pp. 18: 421±430

LeNOBLE, M.E., BLEVINS, D.G.: *Prevention of aluminium toxicity with supplemental boron. I. Maintenance of root elongation and cellular structure*. 1996 Plant. Cell Environ. 19, pp. 1132-1142.

MARKERT, B.A., BREURE A.M., ZECHMEISTER H.G. (eds.): *Trace metals and other contaminants in the environment*, Vol. 6: Bioindicators & Biomonitoring, Principles, concepts and applications. Oxford: Elsevier, 2003, 997 p.

MATSUMOTO, H., F. HIRASAWA, H. TORIKAI, and E. TAKAKASKI. 1976. *Localization of absorbed aluminum in pea roots and its binding to nucleic acid*. Plant and Cell Physiol. pp. 17:127-137.

MOTYKA O.: Diplomová práce. Analýza struktury mechového zápoje pomocí 3D fotogrammetrie. 2008, pp.60

OGALE, A. & AND ALOIMONOS, Y.: Shape and the stereo correspondence problem.- International Journal of Computer Vision. 2005, pp. 65: 147–162

PLÁŠEK, V., MOTYKA, O.: *Small witnesses of fair quality improvement*. Environmental changes and biological assessment III. Scripta Fac. Rerum Natur. Univ. Ostraviensis, Ostravská Univerzita, Ostrava 2006, pp. 163: 155-156

PROCTOR, M.C.F.: *The Bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought*. 1990 Plant Ecology 151pp. 41-49.

PROCTOR, M.C.F. & TUBA, Z.: *Poikilohydry and homoiohydry: antithesis or spectrum of possibilities?* - New Phytologist 2002, pp. 156: 327-349

PURVIS OW, Halls C.: *A review of lichens in metal-enriched environments*. 1996 *Lichenologist* 28: pp. 571±601.

RAO, K. R., Kumar, N. R., and Reddy, A. N.: *Studies of photosynthesis in some liverworts*. 1979 *Bryologist* 82: pp. 286-288.

RENGEL, Z.: *Uptake of aluminium by plant cells*. 1996 *New Phytol.* 134, pp. 389-406.

RODRIGUES, J. L.; BATISTA, B. L.; NUNES, J.A.; PASSOS, C. J. S.; BARBOSA, F. JR.: *Evaluation of the use of human hair for biomonitoring the deficiency of essential and exposure to toxic elements*. *Science of the Total Environment*. 2008, vol. 405, pp. 370-376.

ROY-ARCAND L, Delisle CE, Brie're FG.: *Effects of simulated acid precipitation on the metabolic activity of Cladina stellaris*. 1989 *Canadian Journal of Botany* 67: pp. 1796±1802.

SARAFIS, V.: *biological account of Polytrichum commune*. 1971 *N. Zeal. J. Bot.* 9: pp. 711-724.

SCHERER, G.: *Biomonitoring of inhaled complex mixtures – Ambient air, diesel exhaust and cigarette smoke*. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2008, vol. 57, pp. 75.

SCHROEDER, W. & PESCH, R.: *Synthesizing bioaccumulation data from the German metals in mosses surveys and relating them to ecoregions*, *Science of the Total Environment* 374. 2007 pp. 311-327.

SCHWARTZMAN, CIDLOWSKI JA. : *Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death*. 1993 *Endocrine Reviews* 14: pp. 133±151.

SOJKA, E.,: *Digitální zpracování a analýza obrazu*, Vysoká škola báňská – Technická Univerzita, 2000. Ostrava, pp 65

SUCHAROVÁ, J., SUCHARA, I.: *Atmospheric deposition levels of chosen elements in the Czech Republic determined in the framework of the International Bryomonitoring Program 1995*. *The Science of the Total Environment*. 1998, vol. 223, s. 37-52.

TARHANEN S.: *Membrane permeability response of lichen Bryoria fuscescens to wet deposited heavy metals and acid rain*. 1999 Environmental Pollution 104: 121-129.

VÁŇA J. 2006. *Obecná bryologie*. Praha. Univerzita Karlova v Praze- Nakladatelství Karolinum. 187 pp.

Internetové zdroje

BOHLING, G.: Introduction to geostatistics and variogram analysis [online]. 2005 [cit. 2008-05-0], pp. 20. Dostupné na internetu :

<<http://people.ku.edu/~gbohling/cpe940/Variograms.pdf>>

ČESKÝ HYDROMETEOROLOGICKÝ ÚSTAV: *informace o měření kvality ovzduší prováděných ČHMÚ* [online]. Úsek ochrany čistoty ovzduší, 2006 [cit. 2012-02-20] Dostupné na WWW: <<http://old.chmi.cz/OS/info.php?page=cistota/oco.php>>

INTEGROVANÝ REGISTR ZNEČIŠŤOVÁNÍ: *Resort životního prostředí* [online], 2011 [cit. 2012-1-14]. Dostupné na WWW: <<http://www.irz.cz/node/72>>

MASARYKOVA UNIVERSITA V BRNĚ: *optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem* [online], 2001 [cit. 2012-3-10] Dostupné na WWW: <http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/AES/ICP-OES.pdf>

MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ: *informace o měření kvality ovzduší*. [online]. ČR, 2011 [cit. 2012-2-22] Dostupné na WWW: <www.mzp.cz>